

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON 1

U. E. R. DE MÉDECINE GRANGE-BLANCHE

Année 1977 - N°503

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE
L'ANTIGENE VACCINANT DES SALMONELLES**

Travail de la Division de Microbiologie

du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées

(Chef de Laboratoire : Médecin en Chef R. FONTANGES)

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 Octobre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

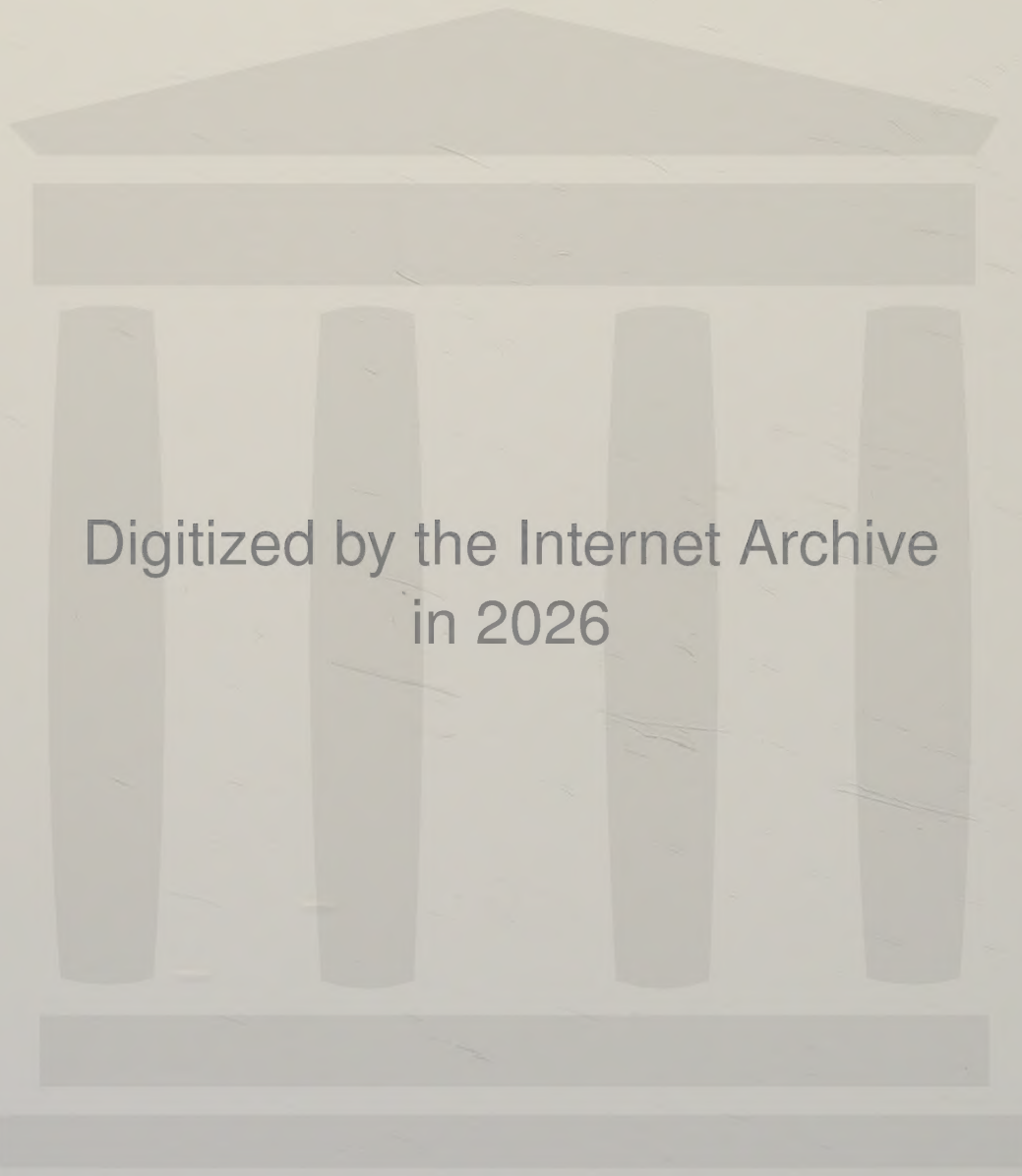
par

BRUNOT Jacques

né le 21 septembre 1951

à Cambrai (Nord)

Élève de l'École du Service de Santé des Armées



Digitized by the Internet Archive
in 2026

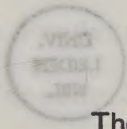
https://archive.org/details/IA41553606_0002

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ANTIGÈNE VACCINANT DES SALMONELLES

Travail de la Division de Microbiologie

du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées

(Chef de Laboratoire : Médecin en Chef R. FONTANGES)



Thèse

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 octobre 1977

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

BRUNOT Jacques

né le 21 septembre 1951

à Cambrai (Nord)

Ancien Eleve de l'Ecole du Service de Santé des Armées

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ANTIGENE VACCINANT DES SALMONELLES

Travail de la Division de Microbiologie

du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées

(Chef de Laboratoire : Médecin en Chef R. FONTANGES)



1975

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 octobre 1975

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

BRUNOT Jacques

né le 21 septembre 1951

à Cambrai (Nord)

U.E.R. MEDECINE GRANGE - BLANCHE

Président de l'Université : Pr. D. GERMAIN

Vice Président : Pr. E. ELBAZ

Deuxième vice-Président : M. B. ROUSSET

Troisième vice-Président : M. LOPEZ

Secrétaire Général : M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE : GRANGE-BLANCHE : Directeur M. Le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS-CARREL : Directeur M. Le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST : Directeur M. Le Professeur J. NORMAND
LYON-NORD : Directeur M. Le Docteur J.P. NEIDHARDT
Directeur Honoraire : M. Le Professeur A. BERTOYE

BIOLOGIE HUMAINE : Directeur : M. Le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)

TECHNIQUES DE READAPTATION : Directeur : M. Le Docteur A. MORGON (MCA)

SCIENCES PHARMACEUTIQUES : Directeur : M. Le Professeur BIZOLLON

SCIENCES ODONTOLOGIQUES : Directeur : M. Le Docteur R. VINCENT

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :

Président du conseil d'U.E.R. : M. Le Docteur J.J. COMTE

Directeur : M. A. MILLON

MATHEMATIQUES : Directeur : M. Le Professeur E. COMBET

PHYSIQUE : Directeur : M. Le Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE : Directeur : M. Le Professeur J. HUET

SCIENCES DE LA NATURE : Directeur : M. Le Professeur R. GINET

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Directeur : M. Le Professeur J.F. WORBE

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 1 : Directeur : M. Le Professeur B. POUYET

INSTITUT UNIVERSITAIRE DE TECHNOLOGIE N° 2 : Directeur : M. J. GALLET
(Directeur ENSAM)

OBSERVATOIRE : Directeur : M. MONNET (Astronome Adjoint)

PHYSIQUE NUCLEAIRE : Directeur : M. Le Professeur GUSAKOW

MECANIQUE : Directeur : M. Le Professeur G. COMTE-BELLOT

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

U.E.R. MEDECINE GRANGE - BLANCHE

Thèse de Monsieur Jacques BRUNOT

COMPOSITION DU JURY

Monsieur A. BERTOYE, Président (U.E.R. Lyon Nord)

Monsieur M. SEPETJIAN, (U.E.R. Lyon Nord)

Monsieur P. VINCENT, (U.E.R. Lyon Nord)

Monsieur R. FONTANGES,

Monsieur O. CREACH.

A mes parents, en témoignage de ma gratitude et de toute mon affectation.

A mon épouse, qui a su montrer beaucoup de patience tout au long de ce travail, en gage de notre amour.

A notre fils.

A mes beaux parents, qui m'ont accueilli comme un nouveau fils, en signe d'affection.

A toute ma famille, et plus particulièrement mes frères et soeur, ainsi que le cousin que j'ai retrouvé à Lyon, en témoignage de mon attachement.

A ma belle famille.

A tous mes camarades de l'Ecole du Service de Santé des Armées et de la Faculté de Médecine, et singulièrement Mrs Michel BERTHELON, Yves THIERRY et Edgard BOURGEVIN.

A tous mes amis.

A Monsieur le Médecin Général Jean LESTAGE,
Commandant l'Ecole du Service de Santé des
Armées de Bordeaux.

Il m'a inspiré l'idée d'entrer à l'Ecole,
et, sans cela, ce travail n'aurait peut-être
jamais vu le jour.

En témoignage de ma reconnaissance.

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur A. BERTOYE,
Professeur titulaire de la Chaire de Clinique
des Maladies Infectieuses à l'Université
Claude Bernard LYON I.

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous fait
d'accepter la Présidence de notre Jury. Nous avons constamment
trouvé auprès de lui l'accueil le plus affable.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre
respectueuse gratitude.

Aux membres de notre Jury

Monsieur le Professeur M. SEPETJIAN,
Professeur de la Chaire d'Hygiène et d'Epidémiologie
à l'Université Claude Bernard LYON I,
Biologiste des Hopitaux.

Nous lui savons gré d'avoir bien voulu s'intéresser à notre
thèse en acceptant de la juger. Nous le prions de bien vouloir
trouver ici le témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Docteur P. VINCENT,
Maître de Conférences Agrégé à l'Université
Claude Bernard LYON I,
Biologiste des Hopitaux.

Nous lui sommes reconnaissant de l'intérêt qu'il a su porter
à notre travail. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre profonde gratitude.

Monsieur le Médecin en Chef R. FONTANGES,
Maître de Recherches du Service de Santé des Armées,
Maître de Conférences à l'Université Claude Bernard LYON I,
Chef de la Division de Microbiologie du Centre de
Recherches du Service de Santé des Armées de Lyon.

Il a bien voulu nous confier ce thème de recherche et nous
permettre de le mener à son terme dans un laboratoire qui porte
la marque de son dynamisme et de son sens de l'efficacité.

Nous sommes particulièrement heureux de le compter aujourd'hui
parmi nos juges et nous le prions de bien vouloir trouver ici
le témoignage de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Pharmacien Chimiste en Chef O. CREACH
Maître de Recherches du Service de Santé des Armées.

Il est l'âme de ce travail qu'il a su inspirer et guider grâce à l'étendue de ses compétences. Nous avons pu apprécier au jour le jour son affabilité et son éclectisme et bénéficier d'un enseignement qui sera aussi pour nous une expérience humaine.

Qu'il veuille bien accepter ici l'expression de notre sincère et respectueuse gratitude.

A Monsieur le Pharmacien Chimiste Principal B. IVANOFF

Il a donné une orientation nouvelle à notre carrière en nous dirigeant vers cette thèse qui constitue un prolongement de ses travaux.

Nous le prions de bien vouloir accepter ce témoignage de notre reconnaissance.

Nous tenons aussi à remercier le personnel civil et militaire de la Division de Microbiologie du CRSSA pour son aide précieuse, en particulier Mme F. LAVAL et Mrs F. ARMINJON et C. DELHOMME.

A Monsieur le Médecin Général Directeur du Service
de Santé des Armées.

Nous remercions respectueusement

Monsieur le Médecin Général Directeur du Centre
de Recherche du Service de Santé des Armées.

Monsieur le Directeur des Recherches et des
Moyens d'Essais.

qui ont permis la réalisation de cette thèse.

A Monsieur le Médecin Général J. THALABARD
Commandant l'Ecole du Service de Santé des Armées.

A Monsieur le Médecin-Chef des Services C. EHRART
Médecin des Hopitaux des Armées
Médecin-Chef de l'Hopital d'Instruction des
Armées Desgenettes.

A Monsieur le Médecin en Chef SEPETJIAN
Commandant en second l'Ecole du Service de Santé
des Armées.

Aux cadres et au personnel de l'Ecole du Service
de Santé des Armées.

A tous nos Maîtres des Hopitaux de Lyon
et plus particulièrement

A Monsieur le Professeur GIROUD et
A Monsieur le Docteur BERTRAND qui ont su
parfaire notre formation médicale lors de nos
stages de fin d'études à l'H.I.A. DESGENETTES.

	<u>Pages</u>
Introduction	1
Première partie : Etude bibliographique	
Chapitre I- Les vaccins bactériens	
I Origine de la vaccination antitypho-paratyphique	3
II Les vaccins tués	4
1) Les différents types de vaccins tués	"
2) Efficacité des vaccins tués	"
A. Efficacité chez l'homme de la vaccination par voie parentérale	5
B. Efficacité chez l'animal de la vaccination par voie parentérale	7
C. Efficacité chez l'homme de la vaccination par voie buccale	8
D. Efficacité chez l'animal de la vaccination par voie buccale	9
3) Inconvénients de l'utilisation des vaccins tués	10
A. Incidents et accidents de la vaccination	"
B. Contre-indications de la vaccination	11
III Les vaccins vivants	24
1) Principaux types de vaccins vivants	"
A. Bactéries virulentes	"
B. Bactéries avirulentes par faible développement chez l'hôte	"
C. Bactéries avirulentes par perte d'antigène somatique	"
2) Efficacité des vaccins vivants	"
A. Vaccination par voie parentérale	"
B. Vaccination par voie buccale	25
a) chez l'animal	"
b) chez l'homme	26
3) Problèmes posés par l'utilisation des vaccins vivants	27
A. Choix de la souche	"
B. Conservation du vaccin	"
C. Vaccinations associées	"
D. Problèmes psychologiques	"
IV Conclusions	28
Chapitre II- Les fractions antigéniques	37
I Introduction	"
II Efficacité des lysats bactériens	39
III Etude des principaux antigènes	"
1) L'antigène somatique	"
A. Définition	"
B. Isolement et purification	40
C. Propriétés physiques	41
D. Structure chimique	"
E. Propriétés biologiques	42
a) toxicité	"
b) pouvoir pyrogène	44
c) activation de l'immunité non spécifique	"
d) propriétés adjuvantes	45
e) pouvoir antigénique	"
f) pouvoir protecteur	"
2) L'antigène Vi	46
A. Mise en évidence	"
B. Localisation	47
C. Extraction - purification	"
D. Propriétés physicochimiques	48
E. Composition et structure chimique	"
F. Propriétés biologiques	49
a) toxicité - pyrogénicité	"
b) rôle dans la virulence	"
c) pouvoir antigénique	50
d) pouvoir protecteur	51

3) L'antigène commun des entérobactéries	52
A. Mise en évidence	"
B. Localisation cellulaire	"
C. Isolement - purification	53
D. Structure chimique	"
E. Propriétés biologiques	54
a) toxicité - pyrogénicité	"
b) propriétés antigéniques	"
c) pouvoir protecteur	"
4) L'antigène H	55
A. Mise en évidence et localisation	"
B. Isolement - purification	"
C. Composition - structure chimique	56
D. Propriétés biologiques	57
a) toxicité	"
b) rôle dans la virulence	"
c) pouvoir antigénique	"
d) pouvoir protecteur	"
5) Les "vaccins ribosomiques"	58
A. Efficacité	"
B. Nature de l'antigène vaccinant	59
C. Nature de l'immunité développée	60
6) Les autres fractions antigéniques	61

Seconde partie : Travaux personnels

Introduction	71
Chapitre I - Matériel et méthodes	72
I Animaux	"
II Souches bactériennes	"
III Préparation de l'antigène brut	73
IV Purification de l'antigène	"
1) Chromatographie d'exclusion	"
2) Chromatographie par échange d'ions	74
V Analyse électrophorétique	"
VI Analyse antigénique	79
VII Dosages colorimétriques	80
VIII Etude du pouvoir protecteur des différentes fractions	81
Chapitre II - Résultats expérimentaux	82
I Fractionnement de l'antigène brut par chromatographie d'exclusion	"
II Fractionnement du pic II Ac A 34 par chromatographie sur hydroxylapatite	"
III Analyse antigénique des différentes fractions	"
IV Etude du pouvoir protecteur des différentes fractions	83
V Analyse électrophorétique des différentes fractions	"
VI Analyse chimique des pics séparés sur hydroxylapatite	"
Discussion Générale	96
Conclusions	98
Résumé - Summary	99

I N T R O D U C T I O N

On peut être tenté aujourd'hui de mettre en doute l'utilité de la vaccination contre les Salmonelloses. La fièvre typhoïde qui était en effet une maladie redoutable, il y a un siècle (14 décès pour 100.000 habitants en France en 1860), apparaît de nos jours comme une infection mineure, de par sa faible incidence (1.356 cas en France en 1969 (198)). Il est certain qu'on dispose actuellement d'antibiotiques très actifs (tel le chloramphénicol, découvert par BURKHOLDER en 1947) qui permettent d'enrayer le peu de cas que n'ont pu éviter les progrès de l'hygiène rurale (surveillance des épandages), urbaine (surveillance des adductions d'eau) et alimentaire (dépistage des porteurs de germes dans l'industrie de l'alimentation, surveillance des parcs de coquillages).

Mais ces mesures d'hygiène, en l'absence de vaccinations systématiques, augmentent paradoxalement le risque de contracter l'affection, car elles nous font perdre les chances d'immunisation occulte naturelle par contacts répétés avec les germes. Or, la persistance de foyers d'endémie typho-paratyphoïdique dans de nombreuses régions du globe, que ce soit en Asie, en Afrique, en Amérique du Sud, en Amérique centrale et, plus près de nous, sur le pourtour méditerranéen (plus de 13.000 cas en Italie et au Maroc en 1969 (198)) constitue une menace permanente, aggravée par le développement et la vitesse des transports, en particulier aériens. L'expérience de ces dernières années montre que le continent européen n'est pas à l'abri des épidémies à salmonelles (7 épidémies à S. typhi, 18 avec association S. typhi - S. paratyphi B en 1975 (383)). Curieusement, les réseaux d'adduction d'eau potable, au lieu de constituer un obstacle à la dissémination des germes ont parfois favorisé cette dernière, comme ce fut le cas à Zermatt en 1963 (51,158) et à Heidelberg en 1975 (41). En outre, des sérotypes autrefois rares en pathologie humaine, tels que S. typhimurium, S. dublin, S. wien (au premier rang en France), S. panama, sont de plus en plus souvent isolés lors des infections d'origine alimentaire ou hospitalière, au point que leur fréquence chez l'homme est actuellement supérieure à celle des souches typhiques et paratyphiques.

Ces arguments justifient, à eux seuls, la nécessité de vacciner pour pallier l'insuffisance de l'immunisation naturelle. Mais il en est d'autres encore plus convaincants. Depuis quelques années, on assiste à une augmentation importante des épidémies dues à des souches résistantes aux antibiotiques réputés actifs (4,58,78,126,182,201,202,307,334,376). Ces épidémies, qui ont eu lieu principalement au Mexique, aux Indes, et dans la péninsule indochinoise, ont pu être importées en Grande-Bretagne (10) et aux U.S.A. par des touristes. Il a d'autre part été démontré que ces résistances, de type extrachromosomique, étaient transférables par l'intermédiaire de plasmides (362), entre souches animales et humaines (373), entre souches animales (139), ou même entre entérobactéries de genres différents (307). Comme exemple de la progression rapide du nombre des souches antibio-résistantes, on peut noter que, sur 13.502 souches isolées aux Pays Bas en 1961 (337), 4 % résistaient aux tétracyclines et au chloramphénicol, cette proportion passant à 11 % en 1962 pour 12.472 souches isolées (338).

Les moyens permettant d'éviter les épidémies à germes résistants sont très limités. L'éradication totale de la bactérie est impossible

à obtenir en pratique, car elle suppose un dépistage systématique des porteurs de germes par coproculture, opération difficile à envisager chez les humains du fait de la longueur de ce portage (jusqu'à 56 ans (134)) et de la latence clinique totale. Il faudrait également étendre ces contrôles aux animaux de toute espèce (y compris la tortue domestique, mise souvent en cause aux U.S.A.), qu'ils soient domestiques ou sauvages, ce qui est impensable. De telles précautions risqueraient d'ailleurs d'être inutiles, dans la mesure où les salmonelles virulentes peuvent survivre quelques temps dans les milieux inertes tels que les boues et les eaux usées.

Il reste la vaccination, seul moyen préventif à long terme utilisable sur une grande échelle.

Dans le cadre des travaux effectués à la Division de Microbiologie du Centre de Recherche du Service de Santé des Armées en vue de l'isolement et de l'identification des antigènes protecteurs des entérobactéries, nous avons participé à l'étude d'une fraction antigénique extraite du surnageant de culture de Salmonella typhimurium. Nous rapportons dans cette thèse les résultats des essais d'immunisation que nous avons pratiqués chez la souris.

Il nous a paru important de situer ces travaux par rapport aux connaissances déjà acquises dans le domaine de la vaccination contre les salmonelles. Notre exposé sera donc divisé en deux parties. La première partie présentera l'essentiel des données actuelles concernant les vaccins inactivés ou vivants et les principales fractions antigéniques isolées à partir des salmonelles. La seconde partie sera consacrée à nos résultats personnels et à leur discussion.

Première Partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

LES VACCINS BACTERIENS

I ORIGINES DE LA VACCINATION ANTITYPHO-PARATYPHOÏDIQUE :

Depuis que le germe responsable de la "dothiéntérie" a été isolé par EBERTH en 1880 (161), de nombreux chercheurs ont essayé de mettre au point un vaccin anti-typhoïdique efficace (cf. tableaux I à V). BEUMER et PEIPER (59) furent les premiers, en 1887, à obtenir une protection chez l'animal, suivis, en 1888, par CHANTEMESSE et WIDAL (93). Moins de dix ans après, PFEIFFER et KOLLE (393) en 1896, puis WRIGHT et SEMPLE (527) en 1897 tentaient de vacciner des humains à l'aide d'une souche inactivée injectée par voie sous cutanée. WRIGHT entreprit aussitôt la vaccination sur une grande échelle des armées des Indes et d'Afrique du Sud. Devant la fréquence des accidents vaccinaux (on a prétendu que durant la guerre des Boers la vaccination antityphique causa plus de pertes chez les troupes anglaises que les fusils adverses!), cette vaccination fut interrompue en juin 1903 ; elle ne devait reprendre qu'en décembre 1904, en Allemagne, sous l'impulsion de PFEIFFER et KOLLE.

A partir de 1910, RUSSEL aux U.S.A., H. VINCENT puis CHANTEMESSE et WIDAL en France commençaient également à vacciner les militaires. Devant les résultats spectaculaires observés dans nos troupes stationnées au Maroc, la loi Léon LABBE rendit la vaccination obligatoire dans l'armée française en 1914. Mais l'apparition de fièvres paratyphoïdes chez des individus ayant déjà reçu le vaccin antityphoïdique rendit bientôt nécessaire la vaccination associée TAB.

Après les essais de vaccination des souris par voie orale entrepris à LYON par J. COURMONT et ROCHAIX (125), en 1911, l'élaboration de la théorie de l'immunité locale par METSCHNIKOFF et BESREDKA (356) devait aboutir à l'utilisation chez l'homme de divers vaccins buccaux (sphérules kératinisées de LUMIERE et CHEVROTIER (323), vaccin bilié de BESREDKA (56)). Ce nouveau mode de vaccination ne réussit cependant pas à s'imposer, essentiellement parce qu'il ne provoquait qu'une élévation faible et inconstante du taux des anticorps sériques. Il a été démontré depuis qu'il n'existe pas de parallélisme entre le taux des anticorps circulants et le degré de protection conféré par la vaccination buccale. Cette dernière connaît depuis une décennie un regain d'intérêt considérable dont les raisons ont été largement soulignées par IVANOFF, CREACH, et FONTANGES (248, 249).

Dès 1886, BEUMER et PEIPER (59) avaient cherché à vacciner des animaux à l'aide de bactéries virulentes vivantes, injectées à doses croissantes. Bien que cette vaccination se fut révélée très efficace, elle présentait trop de dangers pour que l'on envisageât son utilisation systématique chez l'homme. Depuis une vingtaine d'années, divers essais ont été entrepris à l'aide de mutants avirulents des salmonelles et la vaccination par voie orale ouvre des perspectives nouvelles à l'emploi des vaccins vivants.

Nous examinerons successivement la nature et l'efficacité des vaccins tués et vivants ainsi que les principaux problèmes posés par l'utilisation de ces deux types de vaccins.

II LES VACCINS TUÉS :

I) Les différents types de vaccins tués.

Les tableaux I et II montrent que les procédés utilisés pour inactiver les bactéries sont nombreux. Nous distinguerons :

A. Les moyens physiques.

Le plus employé a été le chauffage des bactéries en milieu liquide, à des températures variant entre 50°C (limite vraiment minimale pour l'inactivation des germes) et 110°-120°C. La durée de l'opération peut aller de quelques secondes à 2 heures.

L'exposition aux radiations ultra violettes et aux rayons gamma du cobalt radioactif a servi également à la production de vaccins expérimentaux.

B. Les moyens chimiques.

Les principaux agents bactéricides utilisés pour la fabrication de vaccins inactivés sont l'éthanol, le formol, le phénol, l'acétone et l'alun. Ceux-ci servent parfois de complément à l'effet de la chaleur. Certaines substances telles que les aluns agissent également en tant qu'adjuvants de l'immunité.

C. Les moyens enzymatiques.

Des autolysats de bactéries ont parfois été utilisés comme vaccins. Nous considérons qu'il s'agit dans ce cas d'un mélange d'antigènes; c'est pourquoi nous en parlerons dans le chapitre suivant.

D. Les moyens mécaniques.

Des broyats bactériens obtenus soit à l'aide des ultra sons, soit à l'aide de presses, soit par agitation en présence d'abrasifs ont également été utilisés. Nous les assimilons aussi à des mélanges d'antigènes.

2) Efficacité des vaccins tués.

Comme l'ont souligné IVANOFF et Coll. (248,249), le contrôle de l'efficacité de la vaccination contre les salmonelloses est une opération difficile. L'idéal serait de pouvoir déterminer le pourcentage de survie sur un nombre significatif d'animaux de laboratoire ayant reçu une dose létale de la bactérie pathogène correspondant au vaccin. Malheureusement, certaines salmonelloses, comme la fièvre typhoïde, sont spécifiques de l'homme, ce qui rend hasardeuse l'extrapolation des résultats obtenus sur les animaux. Nous distinguerons donc les essais effectués chez l'homme de ceux réalisés sur l'animal. Beaucoup de travaux se sont limités au titrage des bactériolysines ou des agglutinines O, H ou Vi dans les sérums des sujets vaccinés, ainsi qu'à la mesure de la capacité de ces sérums à protéger la souris ou l'embryon de poulet contre une dose infectante de la bactérie pathogène.

Nous ne nous étendrons pas sur les résultats ainsi obtenus, puisqu'on sait aujourd'hui que le taux d'anticorps sériques ne renseigne pas sur le degré d'immunité dans le cas des entéro-bactéries (SPAUN (451), BENENSON (42), HORNICK (237), PERSHIN (392) et BUSE (82)).

A. Efficacité chez l'homme de la vaccination par voie parentérale.

a) Résultat des campagnes de vaccination.

Nous possédons actuellement un recul suffisant pour pouvoir juger selon des critères épidémiologiques de l'efficacité de la vaccination parentérale à l'aide de bactéries inactivées. Dès que les vaccins tués furent utilisés sur une grande échelle en région d'endémie, les résultats obtenus furent remarquables. Nous retiendrons comme exemples l'utilisation du vaccin à l'éther de H. VINCENT au Maroc, à partir de 1912 et celle de ce même vaccin, puis du vaccin chauffé de CHANTEMESSE et WIDAL (devenu par la suite le vaccin TAB de l'Institut Pasteur) dans l'armée française à partir de 1914.

Maroc :

Années	Morbidité (0/00)
1911	139
1912	55,73
1932	0,70

Armée française
1914 - 1919 :

Années	Nombre de cas	Nombre de décès
1914-1915	105.000	14.000
1916	12.656	484
1917	1.660	135
1918	757	110
1919	655	0

Le cas de la ville de Nantes paraît également exemplaire. Cette ville fut privée d'eau potable en 1945, mais la vaccination de masse pratiquée sur les sujets de 10 à 30 ans empêcha l'apparition de l'épidémie que l'on pouvait craindre (296).

C'est dans ces résultats spectaculaires qu'il faut rechercher l'origine du dogme bientôt admis de l'infailibilité de la vaccination TAB. Mais ce dogme devait être vivement combattu par de nombreux auteurs.

RENDU (412,413,414) a démontré d'abord que les résultats des premières vaccinations sont entachés d'erreurs involontaires. En effet, une épidémie de typhoïde s'éteint d'elle même alors que la vaccination n'est pas encore terminée. On va donc ultérieurement considérer comme immunisés des sujets qui n'auront couru aucun risque de contamination. Si le vaccin est efficace, c'est parce qu'il n'y aura pas eu de contamination et non l'inverse.

Par la suite, de nombreux cas de fièvre typhoïde devaient être constatés chez des sujets qui avaient été correctement vaccinés (49,74,75,92,174,474). BOYER et TISSIER (74,75) attirèrent tout d'abord l'attention sur le fait que le vaccin associé TAB + DT immunise moins bien contre la typhoïde que le TAB seul. Ils remarquent en outre que les cas de typhoïde chez les vaccinés surviennent habituellement dans les cinq années qui suivent la vaccination et non plus tard et expliquent

ce phénomène par l'effet de rappel dû aux contacts occultes avec le germe qui se multiplie avec le temps. Etudiant une épidémie de typhoïde survenue dans la garnison de LYON en 1954, chez des sujets en majorité correctement vaccinés (137 sur 150 malades), FERRABOUX et BERNARD (174) attribuent celle-ci à un manque de stimulation immunitaire et concluent à la nécessité d'injections vaccinales supplémentaires pour pallier l'absence de stimulations occultes résultant des progrès de l'hygiène. Faisant le bilan des épidémies survenues dans les troupes françaises d'Afrique du Nord entre 1955 et 1962, BERNARD et Coll. (49) relèvent d'autre part 1.078 cas de typhoïde dont 66 % chez des sujets correctement vaccinés.

Quelles peuvent être les causes de ces défaillances ? Il convient de souligner tout d'abord que la maladie elle-même n'est pas complètement immunisante. On relève en effet de 10 à 20 % de récidives en zone d'endémie. MARMION et Coll. (341) constatent par exemple 20 % de rechutes lors d'une deuxième épidémie survenant à quelques mois de la première (alors que la morbidité générale est de 34 %). HORNICK (236) réexpose des volontaires au même germe (même type phagique) douze mois après une première typhoïde dûment constatée et obtient 25 % d'atteintes cliniques. En ce qui concerne les vaccinations, LEMIERRE (309) attribue les échecs à un nombre insuffisant d'injections. COLOBERT (120) incrimine l'intervalle de temps séparant les injections (trop court à son avis) et propose de diminuer le nombre de ces dernières ainsi que les doses du vaccin. Analysant les causes d'échec de la vaccination, LAVERDANT (306) en distingue deux catégories :

- Soit une insuffisance de la stimulation antigénique :
 - . par diminution de la valeur immunologique du TABDT
 - . par répartition défectueuse des souches en cause
 - . par manque de stimulation occulte dû aux progrès de l'hygiène
- Soit une défaillance de la réponse immunitaire :
 - . variations individuelles de la réponse (421), peut-être par évincement antigénique : lors de la vaccination TABDT, le sujet répond préférentiellement au DT qu'il a déjà reçu dans l'enfance.
 - . baisse de l'immunité acquise : la fréquence des fièvres typhoïdes augmente avec l'éloignement des vaccinations.
 - . défaillance du terrain liée soit à une déficience physique, soit à une contamination massive.

Des études plus récentes ont été effectuées en région d'endémie et traitées de manière statistique en tenant compte des conditions opératoires définies par COCKBURN en 1955 (109). Les travaux ainsi menés en Yougoslavie par CVJETANOVIC et la Yugoslav Typhoid Commission ont montré que le vaccin tué par la chaleur et phénolé protégeait mieux que le vaccin à l'alcool, le taux de protection ne dépassant pas 70 % (135,136,137,532,533). KHASANOV (277) a essayé également un polyvaccin contenant des salmonelles, des shigelles et des vibrions cholériques inactivés et constate que la fréquence des cas de typhoïde et de paratyphoïde est significativement inférieure dans les groupes de sujets vaccinés.

b) Essais sur sujets volontaires.

Il est incontestable que l'administration à des sujets volontaires d'une dose d'épreuve de bactéries pathogènes constitue un excellent moyen de contrôle de l'efficacité des vaccins humains. Malheureusement de tels essais ne peuvent être effectués que sur un nombre limité d'individus. Ils nécessitent d'autre part des précautions spéciales, en particulier la possibilité de recourir à une antibiothérapie efficace dès l'apparition des premiers symptômes de la maladie.

HORNICK et Coll. (236,237) ont étudié chez des volontaires le pouvoir protecteur d'une souche pathogène de S. typhi inactivée soit par l'acétone soit par la chaleur et conservée à l'aide du phénol. Ils ont constaté que ces vaccins protègent d'une manière significative les sujets contre une dose d'épreuve de la bactérie vivante administrée par voie orale, le vaccin inactivé par l'acétone étant légèrement supérieur au vaccin inactivé par la chaleur. Cette protection n'est cependant pas absolue.

Que peut-on conclure de l'ensemble des données concernant la vaccination de l'homme par voie parentérale ? Il semble que les vaccins inactivés, particulièrement le TAB, confèrent une bonne immunité au groupe, en ce sens qu'ils empêchent la survenue d'épidémies (sauf cas de contamination massive). En revanche, ils n'offrent pas à l'individu une certitude de protection. On constate cependant une diminution de la gravité de la maladie (346) - tous les auteurs n'étant cependant pas d'accord sur ce point (92).

B. Efficacité chez l'animal de la vaccination par voie parentérale.

Le tableau I montre la diversité des espèces animales utilisées pour le contrôle de l'efficacité des vaccins inactivés. Le choix de l'animal a souvent été dicté par le souci de trouver un modèle expérimental offrant un certain parallélisme avec l'infection humaine. Certaines espèces ont cependant été choisies en vue d'une éventuelle application vétérinaire.

Il semble que presque tous les vaccins inactivés figurant dans ce tableau confèrent une certaine protection. De nombreux essais comparatifs ont été réalisés avec des préparations différentes (105,184, 286,352,482). SCHUTZE, (428), en particulier, a étudié en parallèle la valeur de dix vaccins. Il conclut que l'efficacité de ces derniers est tout à fait comparable.

Les divergences apparaissent dès que l'on cherche à évaluer l'efficacité des vaccins d'après l'augmentation des anticorps spécifiques. Selon certains auteurs (303), il faut que le vaccin possède l'antigène Vi qui serait nécessaire à la protection. D'autres, au contraire, prétendent que le vaccin à l'alcool contenant cet antigène ne protège pas mieux que le vaccin phénolé qui, lui, en est dépourvu (352). D'autres enfin considèrent que le vaccin phénolé est plus puissant que le vaccin à l'alcool.

Il est évident que ces contradictions sont liées au test d'efficacité. Si l'on dose les agglutinines Vi, le vaccin à l'alcool sera jugé le meilleur (FELIX (171)), mais si l'on titre les agglutinines H, c'est le vaccin au phénol qui sera considéré comme supérieur (162). On a pu constater que les résultats des expériences réalisées en laboratoire (test de séroprotection de la souris par du sérum de lapin vacciné)

ne présentait aucune concordance avec ceux d'une étude rigoureuse effectuée en parallèle sur le terrain (162). Et l'on admet actuellement, depuis les travaux de SPAUN (451), BENENSON (42), HORNICK (237), PERSHIN (392), FOURNIER (179) et IVANOFF (249,250), qu'il n'existe aucun parallélisme entre le taux des anticorps produits, le test de séroprotection et l'immunité conférée par la vaccination.

Le seul critère d'efficacité indiscutable serait la protection active de l'animal vis à vis d'une dose létale de bactéries pathogènes administrée par voie buccale. Malheureusement, il est souvent difficile de reproduire chez l'animal les conditions naturelles de la maladie humaine, de même que ses caractéristiques cliniques. Si les primates supérieurs ont une pathologie infectieuse proche de celle de l'homme (355), leur utilisation sur une grande échelle est limitée par leur prix de revient et les difficultés de leur manipulation. Les petits rongeurs et particulièrement la souris se prêtent mieux à des essais systématiques, mais ces animaux ne sont pas sensibles à la plupart des salmonelles pathogènes pour l'homme, administrées par voie orale. On n'a donc le choix qu'entre un système modèle faisant appel à une bactérie pathogène pour la souris par voie buccale (S. typhimurium, S. enteritidis ou S. moscow), ou une septicémie provoquée en injectant S. typhi, S. paratyphi A ou S. paratyphi B, soit par voie intrapéritonéale, soit par voie intracérébrale (476).

Les résultats obtenus par l'une et l'autre de ces méthodes démontrent que les vaccins inactivés les plus efficaces correspondent aux bactéries tuées par la chaleur (chauffage modéré pendant un temps assez long, chauffage à température élevée pendant un temps bref) et conservées en présence de phénol, ou alors tuées et desséchées par l'acétone.

Les conclusions demeurent cependant assez contradictoires, probablement parce que les paramètres expérimentaux n'ont pas toujours été choisis de manière optimale, particulièrement en ce qui concerne la dose d'épreuve de bactéries pathogènes, l'intervalle de temps séparant la vaccination de l'épreuve, mais surtout la voie d'administration de la bactérie pathogène. En effet, s'il apparaît d'une façon générale que les vaccins inactivés prolongent la durée de survie des souris ayant reçu une dose d'épreuve de bactéries pathogènes par voie intrapéritonéale, on ne constate cependant pas toujours de diminution du taux de mortalité (231,406,472). D'autre part, les vaccins inactivés capables de diminuer la mortalité des souris éprouvées par voie intrapéritonéale, ne protègent pas les animaux qui ont été éprouvés par voie orale, c'est-à-dire la voie naturelle de l'infection (131,132,333).

C. Efficacité chez l'homme de la vaccination par voie buccale.

Les résultats des essais de vaccination humaine à l'aide de salmonelles inactivées administrées par voie orale sont loins d'être convergents.

A l'origine, deux types de vaccins buccaux ont été utilisés en France parallèlement aux vaccins injectables, avec, apparemment, une efficacité égale. Il s'agissait du bilivaccin de BESREDKA (56,57) et de l'entérovaccin de LUMIERE et CHEVROTIER (323). L'usage de ces vaccins fut peu à peu abandonné, essentiellement parce que la montée des anticorps circulants était inconstante. Les résultats des premiers essais sur le terrain de vaccination antityphoïdique per os, jugés sur des critères d'arrêt de l'épidémie ou de morbidité de l'affection pour

les sujets vaccinés par rapport aux sujets non vaccinés avaient cependant été positifs (84,107,147,153,191,217,292,397,475,483). Mais ces expériences furent critiquées pour leur manque de rigueur (382).

Les travaux les plus récents aboutissent à des conclusions plus nuancées. Ayant vacciné des adultes volontaires pendant trois jours consécutifs à l'aide de tablettes de vaccin tué monovalent (souche Ty 2 V de S. typhi) avant de les éprouver, deux à six mois plus tard, par 10⁵ bactéries pathogènes vivantes, HORNICK (236) n'a pu mettre en évidence aucune protection. Cependant, DUPONT (159) a obtenu une réduction notable du taux d'infection en doublant la posologie du vaccin. Des résultats positifs ont été observés en zone d'endémie par GRAHNEIS (208) lors de l'utilisation d'un vaccin associé typhique-paratyphique inactivé. BORGONO (71,72) et ASHCROFT (23) concluent également à l'efficacité des vaccins tués. CHUTTANI (98,99,100) et HEJFEC (223,224) sont plus réticents dans leurs conclusions. Pour ce dernier, l'immunité conférée par les vaccins inactivés est faible et de courte durée, mais serait susceptible d'amélioration par modification de la dose de vaccin ou du protocole de vaccination.

D. Efficacité chez l'animal de la vaccination par voie buccale.

Le tableau II montre que les essais sur l'animal de vaccins buccaux inactivés ont surtout fait appel au système modèle que constitue la souris et son agent pathogène naturel, S. typhimurium. Ces études ont donné des résultats encourageants (399,400,403) et l'utilisation de la souris a permis à RAETTIG (402) de définir un index d'efficacité permettant de comparer les différents vaccins. On peut cependant regretter que les conditions optimales d'épreuve n'aient pas toujours été respectées, particulièrement en ce qui concerne l'intervalle de temps séparant la vaccination de l'épreuve. Si RAETTIG (404), ANDRE (13) et DENCHEV (146) considèrent que celle-ci doit être effectuée entre le septième et le quatorzième jour, période où la réponse immunitaire locale est maximale, STERNE et TRIM (458) ont montré qu'il était préférable d'opérer après le quatorzième jour si l'on voulait éliminer l'influence des facteurs non spécifiques de l'immunité. Etudiant systématiquement les différents paramètres de la vaccination par voie buccale chez la souris, FONTANGES, IVANOFF et Coll. (177,249) ont d'ailleurs constaté que la protection était aussi bonne au trentième jour qu'au septième et même qu'au quatrième jour suivant l'administration du vaccin. Ces auteurs soulignent l'importance du rythme de vaccination, les meilleurs résultats étant obtenus par administration quotidienne du vaccin pendant cinq jours consécutifs. RAETTIG (402) avait déjà remarqué que les vaccinations répétées à intervalles rapprochés étaient plus efficaces que les vaccinations uniques ou suivies d'un simple rappel.

Utilisant le comptage des bactéries pathogènes (S. enteritidis) dans l'intestin, le foie et la rate pour le contrôle de l'efficacité d'un vaccin inactivé préparé à partir de la même souche, COLLINS (116) admet qu'il y a une légère amélioration de l'immunité locale, mais souligne que le vaccin est incapable d'empêcher l'agent pathogène de franchir la barrière intestinale. On peut noter cependant, d'après les résultats de WALDMAN (498) que l'efficacité des vaccins inactivés peut être améliorée en associant à ceux-ci des adjuvants de l'immunité.

MYNARD (368) a pu obtenir un taux de protection satisfaisant chez le rat en donnant à ce dernier un vaccin TAB inactivé par voie buccale.

3) Inconvénients de l'utilisation des vaccins tués.

Si les vaccins inactivés se révèlent d'une utilisation commode, du fait de leur facilité de conservation et de stockage, leur efficacité, nous l'avons vu, est assez faible. Mais l'emploi de ces vaccins chez l'homme pose également des problèmes d'utilisation que nous estimons nécessaires de rappeler.

A. Incidents et accidents de la vaccination.

Ceux-ci n'apparaissent pas au stade de l'expérimentation animale, mais uniquement à celui du passage à l'homme. De ce fait, nous envisagerons principalement le problème de l'utilisation du vaccin par voie parentérale. En effet, le seul grief que l'on a pu faire à l'encontre des vaccins buccaux est leur manque d'efficacité.

Nous avons pu relever dans la littérature de nombreuses publications visant à impliquer la vaccination antityphoparatyphique dans la genèse d'un très grand nombre de manifestations pathologiques. Il convient de scinder celles-ci en trois groupes :

- Le premier groupe correspond aux affections qui n'ont été décrites qu'un nombre très restreint de fois, ce qui permet de penser que seule une coïncidence est à l'origine de l'association.

- Le second groupe se rapporte aux affections intercurrentes, dans lesquelles on peut distinguer, comme WOLFROMM et J.G. BERNARD (523)

 - . Les maladies infectieuses intercurrentes pour lesquelles le vaccin aura écourté l'incubation.

 - . la révélation ou l'aggravation d'une lésion latente au même titre que n'importe quelle agression.

 - . la réactivation spécifique d'une typhoïde chez un porteur sain par phénomène d'anergie (fixation des anticorps spécifiques (cf. 398)).

- Le troisième groupe, enfin, le plus important car le plus habituel, comprend les réactions à la vaccination, qui sont des phénomènes de défense de l'organisme plus ou moins exacerbés.

a) Réactions locales.

Il s'agit habituellement de douleurs, d'érythème et d'oedème modérés mais pouvant se majorer en un placard érysipélateux très douloureux qui atteint jusqu'à la région lombaire (5). Très rarement on peut assister à la formation d'un abcès aseptique fluctuant, sans que l'on puisse incriminer la technique d'injection. Toutes ces manifestations surviennent rapidement après l'injection ; il faut leur opposer les réactions tardives qui apparaissent de une à plusieurs semaines plus tard et se manifestent par un point douloureux scapulaire au niveau duquel on met en évidence un noyau induré persistant (357).

b) Réactions générales.

Leur gravité varie selon l'importance du tableau clinique. Leur fréquence, d'abord fixée à 25-30 % par H. VINCENT, semble avoir été diminuée par l'amélioration des méthodes de préparation du vaccin. Au minimum, il s'agit d'un tableau pseudo-grippal survenant quelques heures

après l'injection et se manifestant par une ascension thermique à 39°, accompagnée de courbatures, céphalées, malaise général et état nauséux. Plus rarement, la température peut monter au dessus de 40° et s'accompagner alors d'hypotension avec tendance syncopale, de sueurs froides, de frissons (5). Enfin, exceptionnellement, on assiste à la constitution d'un choc vaccinal grave se traduisant par un collapsus cardio vasculaire avec tachycardie, effondrement tensionnel, angoisse, cyanose et même parfois mort brutale du sujet (122,220,420). L'autopsie permet de retrouver des troubles vasomoteurs intenses avec congestion très accentuée des viscères à rapprocher des lésions du syndrome de Sanarelli-Shwartzmann (220).

c) Manifestations organiques.

Il s'agit essentiellement de troubles rénaux plus ou moins graves. Des cas de néphropathies post vaccinales ont été rapportés dès 1916, c'est-à-dire aux débuts de la vaccination (73,354,377). De nombreux exemples de ces troubles ont ensuite été décrits par les médecins militaires français à partir de 1934, date de l'introduction du TABDT (48,110,227,349,350,353).

Il s'agit le plus souvent d'une albuminurie isolée, de constatation banale après vaccination par le TABDT (5), spontanément régressive sans séquelles. Parfois cette albuminurie s'accompagne d'oligo-anurie, d'hématurie, de cylindrurie (64,73,350,377); la rétrocession des signes est alors plus lente. Parfois enfin une néphropathie tardive apparaît, avec, associés aux signes précédents, des oedèmes, une hypertension artérielle et une hyperazotémie (39); ce tableau, d'origine allergique, laisse constamment des séquelles pouvant aller jusqu'à l'insuffisance rénale chronique. BAYLON et BERNARD (39) considèrent cependant que les néphropathies post vaccinales sont rares (71 cas dans la littérature entre 1916 et 1975 (15)) et ne doivent pas limiter l'utilisation des vaccins. Cette conclusion s'applique également aux autres manifestations telles que les hémorragies digestives, les troubles hématologiques, les désordres neurologiques, etc... dont l'inventaire a été dressé par ALAIZE (5).

B. Contre-indications de la vaccination.

Ce sont également des inconvénients importants pour un vaccin. Ici aussi, nous éliminerons la voie orale qui a longtemps été réservée aux sujets pour lesquels la voie parentérale était contre-indiquée (57). Les contre-indications absolues sont, outre les affections intercurrentes et les maladies graves (50) :

- Les terrains débilisés (diabète , tuberculose, sujet âgé...)
- Les antécédents de néphropathies et les albuminuries isolées
- L'asthme et les maladies allergiques (bien que WOLFROMM et BERNARD (523) n'aient compté que trois crises d'asthme sur 131 sujets asthmatiques ayant reçu une ou plusieurs injections de TABDT et que NAPOLITANO (370) n'ait relevé aucune différence entre allergiques et sujets normaux après injection IV d'antigènes bactériens.

Rappelons en outre que toute absorption simultanée d'alcool est à proscrire (COSTEDOAT en particulier ayant pu l'impliquer dans certains des décès constatés (116)).

TABLEAU I

BACTERIES INACTIVEES - VOIE PARENTERALE

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhi</u>	Chaleur 120°	Mortalité	<u>S. typhi</u>	souris	CHANTEMESSE-WIDAL 1888 (93)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 60°	Mortalité	<u>S. typhi</u>	souris cobaye	BRIEGER 1892 (79)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 120°	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>Bact. coli</u>	lapin cobaye	SANARELLI 1892 (425)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 60°	-Mortalité -Pouvoir bactéricide du sérum	<u>S. typhi</u>	lapins	BRUSCHETTINI 1892 (81)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 100°	- Mortalité - Pouvoir protecteur du sérum	<u>S. typhi</u>	lapins cobayes	CHANTEMESSE-WIDAL 1892 (94)
<u>S. typhi</u>	Chaleur	- Pouvoir protecteur contre une dose mor- telle de toxines		lapins	BITTER 1892 (63)
<u>S. typhi</u>	Chaleur + Phénol	Pouvoir bactéricide du sérum	<u>S. typhi</u>	chèvres	PFEIFFER-- KOLLE 1896 (393)
<u>S. typhi</u>	Chaleur conservation phénol	anticorps		homme	WRIGHT - SEMPLÉ 1897 (527)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 50°	agglutinines		lapin	CASTELLANI 1901 (88)

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhi</u>	Chaleur Mélange avec sérum homologue	Mortalité	<u>S. typhi</u>	cobaye puis homme	BESREDKA 1902 (54)
<u>S. typhi</u>	Centrifugation Dessiccation à basse température	agglutinines		souris cobaye mouton	BERGELL-MEYER 1906 (45)
<u>S. typhi</u>	Agitation dans une solution de galactose ou d'urée concentrée. Dessiccation	Mortalité	<u>S. typhi</u>	cobaye	LEVY et Coll. 1906 (314, 315)
<u>S. typhi</u> <u>S. para A et B.</u>	Chaleur 50 et 60°	agglutinines Protection en ré- gion d'endémie		lapin et singé homme	CASTELLANI 1909 (89, 90)
<u>S. typhi</u>	Chaleur avec ou sans sérum homologue	Mortalité	<u>S. typhi</u>	cobaye sen- sibilisé par injec- tion de NaCl hyp- ertonique	VINCENT 1910 (491)
<u>S. typhi</u> ou <u>S. para B</u>	Chaleur 60° avec ou sans addition de sérum homologue ("sensibili- sation")	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>peros dans</u> <u>selles de</u> <u>malade.</u> <u>S. typhi</u> <u>intra peri-</u> <u>toneale</u>	Chimpanzé Cobaye	METCHNIKOFF-BESREDKA I9II (355, 356)

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
T A B	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>S. para A</u> <u>et B</u>	Homme	KABESHIMA 1909-1911 (265)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 55° et 52°	Protection en région d'endémie Agglutinines Bactériolysines		Homme	NICOLLE et Coll. 1912 (375)
T A B	Chaleur puis dessiccation	Mortalité	Germes homologues	Porcelets Moutons	LIGNIERES 1915 (316)
<u>S. typhi</u> <u>S para A</u> <u>et B asso-</u> <u>ciées diver-</u> <u>sément.</u>	Chaleur 56°	Mortalité Agglutinines	Germes homologues.	Cobaye Homme	WIDAL 1915 (519, 520)
T A B	Traitement par solution iodo-iodurée	Mortalité Pouvoir bactéricide du sérum	Germes homologues	Cobaye	RANQUE et SENEZ 1915 (407)
<u>S. paraty-</u> <u>phi B</u>	Chaleur 60° avec ou sans sérum homologue	Mortalité	<u>S. para B</u>	Souris	BESREDKA et BASSECHES 1918 (55)
T A B scarifications	Chaleur 60°	Mortalité	Germes homologues	Cobaye	LUMIERE et CHEVROTIER 1922 (323 bis)
<u>S. typhimurium</u> <u>MT II</u>	Chaleur 55° + trichrésol.	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> <u>per os</u> <u>ou parent.</u>	Souris	WEBSTER 1922 (501)

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPRUEVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
T A B	Chaleur 58°, congélation puis formol	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>S. para B</u>	Souris Cobaye Lapin	GRASSET 1927 (209, 210, 212, 213).
<u>S. typhi</u> + <u>S para B</u>	Congélation + formol ou Chaleur + formol	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>S. para B</u>	Cobaye	GRASSET-GORY 1927 (211)
T A B	Chaleur	Mortalité Agglutinines Pouvoir bactéricide du sérum	Germes homologues	Cobaye Homme	OTTOLENGHI 1930 (386)
T A B	Chaleur	Agglutinines anti H et anti O		Homme	DOWNS 1937 (157)
<u>S. typhi</u>	Chaleur	Agglutinines Pouvoir protecteur du sérum pour la souris		Homme	SAGESSE 1940 (422)
T A B	Chaleur 56°	Mortalité Agglutinines	<u>S. typhi</u> <u>S. para B</u> B 352	Souris Lapin	BONNEFOI-GRABAR 1949 (69)
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur 56° ou formol	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> per os ou intra péritonéale	Souris	LE CHUITON 1949 (308)
<u>S. typhi</u> 58	Lyophilisé + mucine	Mortalité	<u>S. typhi</u> 63	Souris	BATSON 1949 (37)
T A B C	Alcool-conservé alcool	Mortalité	Germes homologues	Souris	FELIX 1951 (171)
T A B	Chaleur-conservé phénol	Anticorps anti O et Vi		Lapin	

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
T A B + <u>S. schottmulleri.</u>	préparation labora- toire Lederlé	Protection contre épizootie	<u>S. enteri-</u> <u>tidis</u>	Souris C F W	CARNOCHAN 1952 (86)
<u>S. typhi</u>	Dessication + merthio- late.	Anticorps anti Vi		Lapin	LANDY 1953 (298)
<u>S. typhi-</u> <u>murium</u>	Lyse par actinomycé- tine.	Mortalité	<u>S. typhimu-</u> <u>rium.</u>	Souris	CASTERMANS 1954 (91)
<u>S. dublin</u>	Chaleur 56°	Mortalité	<u>S. dublin</u>	Souris	REID 1954 (410)
<u>S. dublin</u> ou <u>S. typhimu-</u> <u>rium</u>	Chaleur (56°) - phénol	Mortalité	<u>S. dublin</u> ou <u>S. typhi-</u> <u>murium</u> per <u>os</u> ou <u>intra</u> <u>péritonéale</u>	Souris	Mac LEOD 1954 (333)
<u>S. enteri-</u> <u>tidis</u>	Sels de chrome	Mortalité	<u>S. enteri-</u> <u>tidis</u> per <u>os</u> et <u>intra</u> <u>péritonéale</u>	Souris	ANDO 1954 (12)
<u>S. typhi</u>	Acétone ou cryolysat adsorbé sur Al O ₃	Mortalité	<u>S. typhi</u> - voie <u>intra</u> veineuse	Souris	MAZZETTI 1955 (347)
<u>S. typhi</u> Ty2	Alcool puis suspension dans l'huile d'ara- chide.	Mortalité Anticorps	<u>S. typhi</u> Ty2	Lapin Souris	CHU et Coll. 1956 (96)
<u>S. typhi</u> Ty2	Acide lactique - con- servation acétone	Mortalité	<u>S. typhi</u> , 3 souches différentes	Souris	JANDL 1961 (251)
<u>S. typhi</u> Ty2	Rayons gamma (Cobalt)	Mortalité	<u>S. typhi</u> Ty 2	Souris	SERVANT 1966 (439)

GERME	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhi</u>	Acétone ou chaleur- conservation phénol	Atteinte clinique	<u>S. typhi</u> <u>quailles</u>	Volon- taires	HORNICK et Coll. 1971 (237)
<u>S. typhi-</u> <u>murium</u>	Chaleur 63°	Isolement des bactéries d'épreuves dans les selles et la rate.	<u>S. typhimu-</u> <u>rium SmR</u> <u>per os</u>	Souris	WALKMAN et Coll. 1972 (498)
<u>S. typhimu-</u> <u>rium Suc LL</u> ou <u>SR II</u>	Déoxycholate ou cha- leur (56° - 100°)	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>murium</u>	Souris	HERZBERG et Coll. 1972 (229)
<u>S. typhi Ty2</u>	Acétone - voies intra- péritonéale et orale	Mortalité	Hybride <u>S. typhi</u> <u>S. typhimu-</u> <u>rium - voie</u> <u>intrapéri-</u> <u>tonéale</u>	Souris	DIENA 1977 (151)

TABEAU II

BACTERIES INACTIVEES - VOIE ORALE ET AUTRES VOIES

GERMES	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhi</u>	Chaleur	Agglutinines		Lapin	WAKULENKO 1902 (cité in 436)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessication	Agglutinines		Lapin	TCHITCHKINE 1904 (464)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessication	Agglutinines		Cobaye	GABRITCHESKI 1905 (185)
<u>S. typhi-murium</u>	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium per os</u>	Souris	LOEFFLER 1906 (318)
<u>S. typhi</u>	Chaleur	Agglutinines Bactériolysines		Cobaye	HIDA 1907 (cité in 436)
<u>S. para B</u> ou <u>S. typhi-murium</u>	Chaleur	Mortalité	Germes homologues	Souris	WOLF 1908 (522)
<u>S. para B</u> ou <u>S. typhi-murium</u>	Chaleur - dessication	Mortalité	Germes homologues	Souris	YOSHIDA 1908 (528)

GERMES	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
<u>S. typhi</u>	Chaleur 53°	- Mortalité - Agglutinines - Bactériolysines	<u>S. typhi</u> I V	Lapins Homme	COURMONT et ROCHAIX 1911 (124, 125)
<u>S. typhi</u>	Chaleur 60°	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>per os</u>	Chimpan- zé	METSCHNIKOFF 1911 (355, 356)
T A B	Chaleur - dessiccation puis kératinisation	Mortalité	Germes homologues	Cobaye Lapin	LUMIERE - CHEVROTIER 1912 (323)
<u>S. typhi</u> <u>S. para B</u>	Chaleur - addition de sérum homologue ou de bile de boeuf	Mortalité Agglutinines	<u>S. typhi</u> <u>S. para B</u>	Lapin Souris	BESREDKA 1918 (55, 56)
<u>S. typhimu-</u> <u>rium MT II</u>	Chaleur 55° + trichrésol	Mortalité	<u>S. typhimu-</u> <u>rium per os</u> ou <u>parentéral</u>	Souris	WEBSTER 1922 (501)
<u>S. typhi</u> ou ou <u>S. para</u> B à bacté- riophage	Chaleur + benzoate de soude	Mortalité	Germes homo- logues	Souris	KUROKOWA 1926 (295)
<u>S. para B</u> <u>S. typhi</u>	Congélations - décongéla- tions puis centrifugation et traitement par le formol	Mortalité	Germes homo- logues I. V.	Lapin	LESBRE 1927 (310) LESBRE et GRANDCLAUDE 1928 (311)
<u>S. para B</u>	Chaleur	Mortalité Agglutinines Bactériolysines Pouvoir protecteur du sérum	<u>S. para B</u>	Pigeon	KOSMODEMIANSKY 1928 (289)

GERMES	NODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
T A B	Chaleur	Agglutinines Précipitines Fixation du complément		Homme	HOFFSTADT 1929 (233)
T A B	Chaleur (voie orale ou nasale).	Mortalité Agglutinines Pouvoir bactéricide du sérum	Germes homologues	Cobaye	OTTOLENGHI 1930 (386)
<u>S. typhi</u>	Chaleur puis adjonction de sérum	Agglutinines		Homme	PIJPER 1930 (394)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessiccation	Agglutinines		Lapin	DOMINGO 1932 (156)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessiccation	Agglutinines		Homme	KOROBKOWA 1932 (288)
T A B	Chaleur - dessiccation	Agglutinines		Homme	VICAREZZA 1934 (490) DOWNS 1937 (157) GUARNACCI 1938 (215) CRIMM 1938 (130)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessiccation	Agglutinines Pouvoir protecteur du sérum pour la souris		Homme	SAGESSE 1940 (422)
<u>S. typhi</u>	Chaleur - dessiccation	Agglutinines		Homme	MOOR 1941 (367) CITERNI 1941 (103)
<u>S. paratyphi</u>	Chaleur - 45°	Mortalité	<u>S. paratyphi</u> <u>per os</u>	Moineaux Oiseaux exotiques	LOUAIL 1952 (319)

GERMES	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. enteritidis</u>	Sels de chrome	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> per os ou intrapéritonéal	Souris	ANDO 1954 (12)
<u>S. gallinarum</u>	Ethanol 70 % ou formol 0,3% ou bactériophage	Mortalité	<u>S. gallinarum</u> per os	Poulet	SMITH 1956 (439)
<u>S. paratyphi</u>	Dessication (aérosols)	Agglutinines		Chevaux Brebis Porcs Veaux	PRITULIN 1961 (395)
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	RAETTING 1964 (400)
<u>S. typhimurium</u> , <u>S. enteritidis</u> et <u>S. paratyphi</u> A et B.	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	RAETTING 1965 (401)
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Agglutinines anti O, anti H et anti Vi		Homme	KAROLCEK 1965 (266)
<u>S. schwarzengrund</u> <u>S. heidelberg</u> , <u>S. newport</u> , <u>S. blockley</u>	Chaleur	Mortalité	Germes homologues	Souris	KINNE-SAFRAN 1968 (279)
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	STICKL 1968 (460)

GERMES	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	MARWICK 1968 (344)
<u>S. typhi</u> Ty2	Acétone	Hémagglutination passive, immunofluorescence		Souris	DE BARBIERI 1970 (144)
T A B	Chaleur ou acétone	Hémagglutination passive		Souris Lapin Poulet Homme	SALETTI 1970 (424)
<u>S. schwartzengrund</u> <u>S. typhimurium</u>	Chaleur Chaleur	Mortalité Mortalité	<u>E. coli</u> 2380 <u>S. typhimurium</u>	Souris Souris	RAETTIG 1971 (403)
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Numération des bactéries survivantes dans le broyat de rate sur milieu SS	<u>S. typhimurium</u>	Souris	WALDMANN 1971 (497)
<u>S. typhi</u> Ty2	Acétone	Atteinte clinique	<u>S. typhi</u> - qualés -Ty2 Vet W " -zermatt " -O 901	Homme	HORNICK 1971 (237)
T A B	Chaleur	Mortalité Coproanticorps Anticorps sériques	<u>S. typhimurium</u> et <u>S. typhi</u>	Rat	MYNARD 1971 (368)
<u>S. typhi</u> Ty2		Mortalité	<u>S. typhi</u> intrapéritonéale.	Souris	KOCIOK 1971 (283) NEGRETTI 1971 (371) THILO 1973 (466)

GERMES	MODE D'INACTIVATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. typhimurium</u>	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> - <u>Streptomycino-résistantes</u>	Souris	WALDMANN 1972 (498)
<u>S. typhi</u> Ty2 et <u>S. para B</u>	Chaleur - phénol ou acétone.	Immunofluorescence Ig A fécales		Enfant	PANERO 1972 (388)
<u>S. typhimurium</u> C 5 S	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> per os ou intra-péritonéale	Souris	IVANOFF, CREACH et FONTANGES 1973 (243, 245)
<u>S. typhimurium</u> Ty 58	Acétone	Coproculture Hémoculture	endémie à <u>S. typhi</u>	Enfant	CHUTTANI 1973 (100)
<u>S. typhi</u> et <u>S. para B</u>		Protection en région d'endémie		Homme	GRAHNEIS 1974 (208)
<u>S. typhimurium</u> C 5 S	Chaleur	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> per os ou intra-péritonéale	Souris	IVANOFF 1976 (249)

Enfin, il est à signaler que l'on s'accorde généralement à déconseiller cette vaccination chez la femme enceinte (15).

III LES VACCINS VIVANTS :

I) Principaux types de vaccins vivants.

Ces vaccins sont constitués de germes vivants présumés avirulents, dont l'activité immunogène est liée au développement de la souche vaccinale chez l'hôte. Il s'agit en quelque sorte de produire chez l'animal ou l'homme une primo-infection typhoïdique et donc de procurer une immunité identique à celle que donne la maladie elle-même. Pour que de tels germes puissent être utilisés, l'O.M.S. demande qu'ils possèdent "une innocuité raisonnable et une efficacité certaine" (382).

Plusieurs types de vaccins ont pu être utilisés :

A. Bactéries virulentes.

Empiriquement les premières recherches (59, 290, 372, 393) furent faites avec des bactéries virulentes utilisées chez l'animal à doses croissantes.

B. Bactéries avirulentes par faible développement chez l'hôte.

Il a été démontré (HERTZBERG (228)) que les bactéries dépendant pour leur développement d'une substance qu'ils ne trouvent pas chez l'hôte sont avirulentes pour cet hôte. C'est le cas des souches dépendantes de la guanine (470), de la purine (28, 228), de l'adénine (183), de la streptomycine (41, III, 138, 313, 429, 455).

On classe également dans cette catégorie les mutants sensibles à la température, les mutants de colonies naines et les hybrides d'espèces différentes (382).

C. Bactéries avirulentes par perte d'antigène somatique.

Il s'agit de souches Rough (160, 325, 439, 441) ou ayant subi une diminution quantitative de l'antigène somatique O (18, 194).

2) Efficacité des vaccins vivants.

A. Vaccination par voie parentérale (tableau III)

Cette voie a exclusivement été utilisée chez l'animal. Les premières tentatives d'immunisation par injection parentérale de bactéries virulentes avaient montré que les animaux ayant survécu à la vaccination résistaient ensuite à l'administration d'une dose élevée des mêmes bactéries pathogènes (59, 372, 501). Les essais effectués ultérieurement à l'aide de souches peu virulentes ont montré également que la protection ainsi conférée était excellente (114, 221, 270, 280, 361). Les résultats obtenus en utilisant des mutants avirulents ont été plus divergents (20, 36, 83, 116, 195, 271). Nous verrons plus loin que l'efficacité de ces derniers est liée au choix de la souche, la présence de l'antigène somatique étant déterminante, bien que ce dernier ne doive pas être lui même considéré comme l'antigène protecteur.

Dans l'ensemble les auteurs s'accordent à reconnaître que l'immunité induite par l'injection de vaccins vivants est supérieure à celle que confèrent les vaccins tués (II4,II7,I95,40I). COLLINS (II7) propose d'expliquer ce phénomène de la manière suivante. La résistance acquise de l'hôte aux salmonelles dépend à la fois des réponses humorales et cellulaires. Mais si les immunoglobulines sériques jouent un rôle dans la phase*de l'infection, elles cessent d'intervenir lorsque l'agent pathogène a pu se fixer dans le foie ou la rate, l'élimination de la bactérie ne dépendant alors plus que de la réponse immunitaire cellulaire. L'incapacité des salmonelles inactivées à provoquer ce type de réponse se traduit par l'infériorité des vaccins tués et l'efficacité des vaccins vivants dépend davantage de leur aptitude à survivre chez l'hôte vacciné que de l'étroitesse des rapports phylogéniques existant entre le vaccin et la bactérie d'épreuve. Il n'en demeure pas moins qu'à long terme l'animal est mieux protégé contre les bactéries pathogènes antigéniquement proches de la souche vaccinale (II4,274).

B. Vaccination par voie buccale.

C'est surtout l'immunisation par voie buccale qui a montré l'intérêt de l'utilisation de vaccins vivants pour la prévention des salmonelloses.

a) Chez l'animal.

Différentes espèces animales ont été utilisées pour l'étude de l'efficacité des vaccins vivants administrés par voie orale (cf. tableau IV). A de rares exceptions près (I5I,455), tous les auteurs soulignent la valeur d'une telle vaccination.

Le contrôle de l'immunité chez les souris vaccinées, qu'il soit effectué par numération des salmonelles dans l'intestin, le foie et la rate, après administration d'une dose d'épreuve de bactéries pathogènes (II6,I93) ou par détermination du pourcentage d'animaux survivant à une dose létale de bactéries virulentes (247,249,429,470,50I) met en évidence la nette supériorité des vaccins vivants par rapport aux vaccins tués. Les taux de survie à une infection qui tue 100 % des témoins varient de 60 % (232) à 100 % (440,47I) alors que les vaccins inactivés essayés en parallèle selon le même protocole expérimental ne protégeant que 30 à 50 % des animaux. Si les résultats obtenus par DIENA et Coll. (I5I) montrent que des souris vaccinées par voie buccale à l'aide d'une souche Ty 2 vivante de S. typhi sont moins bien protégées contre un hybride pathogène de S. typhi et S. typhimurium que les animaux vaccinés par voie intrapéritonéale, dans l'ensemble, chaque fois que le vaccin et la bactérie d'épreuve étaient de même espèce, la voie orale s'est montrée supérieure à la voie parentérale (II7,247,249,28I,333,470). Il apparaît en outre que la voie orale favorise l'instauration très précoce d'une immunité locale intestinale non spécifique (II6). Quant à l'immunité spécifique, son niveau est fonction de la durée de survie du vaccin in vivo (II6,I95), donc de la virulence du germe (83), mais ne dépend pas du pouvoir pathogène, de ce dernier (II6). D'autre part, elle persiste bien au delà de la période où les bactéries vivantes peuvent être décelées dans le foie et la rate des souris (II6).

- - - - -
* précoce

Les résultats observés chez les autres animaux de laboratoire sont également très favorables dans l'ensemble (20,138,439). Si la vaccination du chimpanzé à l'aide de mutants streptomycino-dépendants n'a pas permis à STASILEVITCH (455) d'obtenir une protection vis à vis des souches pathogènes correspondantes, l'auteur constate néanmoins une diminution de la gravité et de la durée de l'infection. D'autre part, CVJETANOVIC (138), utilisant comme vaccin une souche streptomycino-dépendante de S. typhi, a montré qu'on pouvait parfaitement protéger cet animal contre la souche pathogène correspondante à condition d'associer la streptomycine au vaccin.

b) Chez l'homme .

Des expériences portant sur la protection contre une dose d'épreuve de bactéries pathogènes donnée par la bouche ont été réalisées chez des sujets volontaires par HORNICK et Coll. (238) ainsi que par LEVINE et Coll. (313) avec des mutants de S. typhi streptomycino-dépendants ou dépourvus de galactose épimérase. Les taux de protection observés varient entre 66 et 80 % . MEL (351) a montré que ces vaccins provoquent chez l'homme une augmentation des anticorps circulants et fécaux.

3) Problèmes posés par l'utilisation des vaccins vivants.

Si l'efficacité des vaccins vivants n'est plus à démontrer, leur utilisation pose quelques problèmes que nous examinerons brièvement.

A. Choix de la souche.

L'emploi des vaccins vivants est subordonné à des exigences qui ont été codifiées par l'O.M.S. (382). Les bactéries utilisées doivent :

- être incapables de provoquer la maladie et subsister assez longtemps dans les tissus pour produire une forte réponse immunogène,
- être incapables dans les conditions normales de se propager par des moyens naturels à des sujets non immunisés,
- posséder des caractéristiques qui les distinguent facilement des souches virulentes sauvages existant à l'état naturel.

Les possibilités de retour à la virulence ont été étudiées pour des souches streptomycino-dépendantes (Smd). La probabilité de cette réversion a été chiffrée à $2,8 \times 10^{-8}$ par VLADOIANU (494,495), à la suite d'expérimentation chez la souris. LINDE (317), à l'issue d'études faites chez l'homme, conclue à la stabilité génétique de ces souches, les mutations ne donnant naissance qu'à de nouvelles souches avirulentes. ELKINA (164), utilisant des mutants doubles streptomycino et guanino-dépendants constate qu'en cas de nouvelle mutation pour l'une de ces propriétés le nouveau mutant reste avirulent. MARINOVA (340) après une étude de 18 mois effectuée parallèlement en étuve et chez l'animal conclue à la stabilité des souches streptomycino-résistantes.

Les observations de LEVINE et Coll. (313) portant sur 176 hommes ayant reçu, per os, des mutants Smd, de même que celles de SERGEEV (430), portant sur 8.000 sujets ont permis à ces auteurs de conclure à l'inocuité quasi totale du vaccin, les réactions secondaires se limitant à quelques cas de diarrhées très bénignes.

Il semble donc que ces vaccins soient à la fois stables et atoxiques. Cependant JENKIN (254) démontre que les vaccins vivants pérénisent le portage asymptomatique des germes virulents et DAVIES (140) pense que chez les sujets ayant reçu de tels vaccins les germes virulents persistent dans les tissus. GERMANIER (195) démontre que si tel est le cas pour les souches hétérologues, ceci est faux en ce qui concerne les bactéries virulentes homologues. On peut donc admettre que si les vaccins vivants protègent contre l'infection par des souches hétérologues, ils n'empêchent pas la dissémination de ces dernières dans la mesure où ils n'arrivent pas à provoquer une élimination rapide des germes en cause.

B. Conservation du vaccin.

La quasi totalité des essais effectués à l'aide de vaccins vivants a fait appel à des cultures de bactéries fraîchement préparées. Il est évident qu'il serait intéressant de pouvoir conserver de tels vaccins. L'étude de l'efficacité d'une souche vivante lyophilisée chez l'homme a donné des résultats très décevants (LEVINE (313)). Mais il s'agit d'un problème de maintien de la viabilité des bactéries au cours de la lyophilisation, et si cette question n'a pas encore été résolue dans le cas des salmonelles, les conditions opératoires ont pu être définies pour d'autres espèces telles que Yersinia pestis (FONTANGES (176), DISDIER (152)).

C. Vaccinations associées.

On ne sait pas encore dans quelle mesure on pourrait associer diverses souches vivantes pour réaliser un vaccin polyvalent en une seule dose. Il est possible que la prolifération d'une des souches dans l'organisme s'accompagne de la disparition de l'autre, ce qui nuirait évidemment à l'obtention d'une immunité contre cette dernière.

D. Problèmes psychologiques.

L'usage des vaccins vivants rencontre dans l'opinion et même dans les milieux médicaux une opposition quasi "philosophique". Il suffit de rappeler ici l'hostilité rencontrée au début par le BCG et par le vaccin polio oral vivant de type Salk. On craint le retour à la virulence ou la toxicité des souches mutantes. Nous avons vu ce que l'on pouvait en penser dans le cas des salmonelles.

IV CONCLUSIONS :

A la lueur des résultats obtenus avec les vaccins bactériens, aussi bien chez l'homme que chez l'animal, on constate que les vaccins tués sont d'un emploi facile parce qu'ils se prêtent aisément au stockage et à la conservation. Leur utilisation n'est cependant pas exempte d'inconvénients, mais surtout ils n'ont qu'une faible efficacité si on ne leur associe pas d'adjuvants de l'immunité.

Le pouvoir protecteur des vaccins vivants est en revanche incontestable, puisque ces derniers permettent d'obtenir une immunité comparable à celle que confère la maladie elle même. L'utilisation de tels vaccins pose cependant encore quelques problèmes comme le choix de la souche avirulente, la recherche des conditions optimales de

conservation des bactéries vivantes, l'étude des possibilités d'associations vaccinales.

Les données que nous venons d'exposer permettent également de souligner, dans le cas des vaccins vivants particulièrement, la supériorité de la voie orale sur la voie parentérale pour la protection contre les salmonelloses.

TABLEAU III

VACCINS VIVANTS - VOIE PARENTERALE

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEUR
<u>S. typhi</u>	Virulent - doses croissantes	Mortalité	<u>S. typhi</u>	Souris	BEUMER et LEIPER 1887 (59)
<u>S. typhi</u>	Virulent - doses croissantes	Mortalité	<u>S. typhi</u>	Souris	NEISSER et SHIGA 1893 (372)
<u>S. typhi</u>	Virulent - doses croissantes	Pouvoir bactéricide du sérum		Chèvre	PFEIFFER et KOLLE 1896 (393)
<u>S. typhi</u>	Virulent	Mortalité	<u>S. typhi</u>	Cobaye sensibilisé par injection de NaCl hyper.	VINCENT 1908 (491)
<u>S. typhi</u>	Virulent	Mortalité	<u>S. typhi per os</u>	Chimpanzé	METCHNIKOFF et BESREDKA 1911 (355, 356)
<u>S. typhimurium MT II</u>	Virulent	Mortalité	<u>S. typhimurium per os ou parentéral</u>	Souris	WEBSTER 1922 (501)
<u>S. typhi et S. para B</u>	Virulents	Mortalité	Germs homologues	Cobaye	GRASSET 1927 (211)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEUR
<u>S. enteritidis</u> ou <u>S. cholerae-suis</u>	Mutants Rough	Mortalité	Homologues Smooth	Souris ou Lapin	KOBAYASHI 1952 (281)
<u>S. abortus equi</u>	Mutants R	Mortalité	Homologue S	Hamster	TOBA 1954 (471)
<u>S. dublin</u> ou <u>S. typhimurium</u>	Virulent Peu virulent	Mortalité	Homologues virulents per os ou parentérale	Souris	Mac LEOD 1954 (333)
<u>S. typhimurium</u>	Mutant S ₂ /R, SmR peu virulent	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> S ₂ /446 virulent	Souris	HOBSON 1957 (231)
<u>S. typhi</u> ou <u>S. cholerae-suis</u>	...Ty 6 S ...var kunzendorf	Mortalité	<u>S. para C</u> per os ou parentérale	Souris Strong A	ARCHER 1957 (17)
<u>S. enteritidis</u>	Souche Ser peu virulente	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> et <u>S. cholerae suis</u> per os	Souris ddf	MITSUHASHI 1958 (360)
<u>S. typhimurium</u>	Mutants streptomycino et purino dépendants	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> souche 10	Souris	BARON et FORMAL 1960 (36)
<u>S. enteritidis</u>	Souche Ser peu virulente	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> 116 - 54 virulente	Souris ddN	MITSUHASHI-HASHIMOTO 1960 (361) 1961 (221)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEUR
<u>S. dublin</u>	Mutant R	Mortalité	<u>S. dublin</u> <u>S. cholerae</u> <u>suis</u> <u>S. typhimurium</u> <u>E. coli</u> <u>virulents per</u> <u>os</u>	Souris Veaux Cochons	SMITH 1965 (441)
<u>S. dublin</u>	Mutant R	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> <u>S. cholerae</u> <u>suis virulents</u> <u>per os</u>	Cobaye	SMITH 1966 (442)
<u>S. enteritidis</u> <u>S. pullorum</u> <u>S. montevideo</u> <u>S. gallinarum</u>	795 Sm R 223 } avirulents pour la 286 } souris NCTC 9240	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> <u>dis 2795</u> <u>Sm S</u>	Souris	COLLINS 1966 (111)
<u>S. enteritidis</u>	Variété Ser 18 m peu virulente	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> <u>dis 116 - 54</u> <u>virulente</u>	Souris ddN	KAWAKAMI 1966 (270)
<u>S. typhi</u>	Souche 27 V Smd	Agglutinines		Lapins Souris	REITMANN 1967 (411)
<u>S. typhimurium</u>	Souche 9 D avirulente 11 C virulente DSC1 très virulente	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> <u>11 C</u>	Souris	GOWEN 1967 (207)
<u>S. typhimurium</u>	Souche LT guaninodépén- dante	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> <u>per os</u>	Souris	TKACHENKO 1967 (470)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEUR
<u>S. enteritidis</u>	- Ser 18 m - Ser (atténué) + 116-54 (virulent) - 116-54 + kanamycine	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> dis 116-54 ou <u>S. typhimurium</u> Stm H, Virulents	Souris	KAWAKAMI 1967 (271)
<u>S. cholerae-suis</u> <u>S. typhimurium</u>	- P 32, mutant R - mutants R				
<u>S. typhimurium</u>	TV 119 et SL 1102, mutants R				
<u>S. enteritidis</u>	11 Rx et RB ₁ , mutants R	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> Suc LL <u>S. enteritidis</u> dis 11 S	Souris CD ₁	KENNY 1968 (274)
<u>S. enteritidis</u> <u>S. typhimurium</u> <u>S. para C</u>	795 peu virulent C5 et M 206 159-64	Mortalité Compte de germes dans les viscères	<u>S. enteritidis</u> NCTC 5694 Sm R ou <u>S. typhimurium</u> C5 Sm R	Souris white Swiss	COLLINS 1968 (114, 115)
<u>S. senftenberg</u> <u>S. invernness</u> <u>S. Adelaïde</u>					
<u>S. typhimurium</u>	395 MS, mutant R	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> 395 MS, S	Souris	EBEDO 1970 (160)
<u>S. typhimurium</u>	mutants R	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> 395 MS	Souris	GERMANIER 1970 (193)
<u>S. typhi</u> <u>S. typhimurium</u>	E II } mutants sous galac- tose-épinérase G30 }	Elimination des bactéries d'épreuve	<u>S. typhi</u> Ty 2 <u>S. typhimurium</u> LT 2 - <u>S. enteritidis</u> 11	Souris	GERMANIER 1971 (195)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEUR
<u>S. minnesota</u>	Mutants R	Mortalité	<u>Klebsiella pneumoniae</u> <u>E. coli 107</u>	Souris CF 1	Mac CABE 1972 (325)
<u>S. enteritidis</u> <u>S. pullorum</u>	5694 atténué 223 non virulent pour la souris	Mortalité	<u>S. enteritidis 5694</u> <u>Sm R</u> , intragastrique ou parentérale	Souris	COLLINS 1973 (117)
<u>S. typhimurium</u>	Mutants R	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	CAMERON et FULLS 1974 (83)
<u>S. typhi</u>	Ty 2I a, mutant sans galactose - épimérase	Mortalité	<u>S. typhi Ty 2</u>	Souris	GERMANIER 1975 (197)
<u>S. typhimurium</u>	M 206 avirulent	Mortalité	<u>S. typhimurium C5S</u> per os et parentérale	Souris	IVANOFF 1976 (249)
<u>S. typhi Ty 2</u>	Virulente - voie orale ou intrapéritonéale	Mortalité	Hybride <u>S. typhi-typhimurium</u> intrapéritonéale	Souris	DIENA 1977 (151)

TABEAU IV

VACCINS VIVANTS - VOIE ORALE ET AUTRES VOIES

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. paraty-</u> <u>phi B</u>	Virulent			Cobaye- souris	KORTE 1903 (290)
<u>S. typhimu-</u> <u>rium</u> MT II	Virulent	Mortalité	<u>S. Typhimu-</u> <u>rium</u> i.p., s.c., p.o.	Souris	WEBSTER 1922 (501)
<u>S enteriti-</u> <u>dis</u> <u>S. cholerae</u> <u>suis</u>	Mutants R.	Mortalité	Homologues virulents, voie paran- térale	Souris Lapin	KOBAYASHI 1952 (281)
<u>S. typhimu-</u> <u>rium</u> <u>S. dublin</u>	Peu virulent Virulent	Mortalité	Homologues virulents, voie orale ou parentérale	Souris	Mac LEOD 1954 (333)
<u>S. gallina-</u> <u>rum</u>	Souche 9 S et mutants 9 R	Mortalité	<u>S. gallinarum</u> souche 9-584 et L, voie orale	Poulet	SMITH 1956 (439)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S.</u> diverses et germes d'autres espèces.	Virulents	Mortalité	<u>S. gallinarum</u> , souche 9	Poulet	SMITH 1956 (440)
<u>S. typhi</u> <u>S. cholerae-</u> <u>suis</u>	Souche Ty 6 S Variété kunzendorf	Mortalité	<u>S. paratyphi C</u> i.p. ou p.o.	Souris	ARCHER 1957 (17)
<u>S. typhi</u>	Souche Ty 2, aérosol (vaccination par voie aérienne).	Morbidité	<u>S. typhi</u> Ty 2 per os	Chimpanzé	TULLY 1963 (479)
<u>S. enteriti-</u> <u>dis.</u>	Inapte à la prolifération	Mortalité	<u>S. enteriti-</u> <u>dis virulente</u> per os	Souris	RAETTIG 1965 (401)
<u>S. typhimu-</u> <u>rium</u>	Souche LT 2, guanino dépendante	Mortalité	<u>S. typhimu-</u> <u>rium virulente</u> per os	Souris	TKACHENKO 1967 (470)
<u>S. enteriti-</u> <u>dis</u>	Mutant Smd	Mortalité	<u>S. enteriti-</u> <u>dis virulente</u> per os	Souris	SERGEEV 1970 (429)
<u>S. gallina-</u> <u>rum</u>	Souche 9 R	Mortalité	<u>S. gallinarum</u> souche 9 S	Poulet	ARDA 1971 (20)

GERME	TYPE	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
<u>S. enteritidis</u> <u>S. typhimurium</u>	Mutants Smd	Morbidité	<u>S. enteritidis</u> et <u>S. typhimurium virulentes</u> <u>per os</u>	Chimpanzé	STASILEVITCH 1972 (455)
<u>S. enteritidis</u>	Se 795, virulent, doses sublétales	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> <u>Se 5694</u> <u>virulente</u> doses létales <u>per os</u>	Souris	COLLINS - CARTER 1972 (116)
<u>S. typhi</u>	Ty 21 a, mutant sans ga- lactose épimérase. Vaccin avec ou sans ga - lactose.	Morbidité	<u>S. typhi</u> Ty 2	Homme	HORNICK 1975 (238)
<u>S. typhi</u>	Souche 27 V, Smd, fraiche ou lyophilisée	Morbidité Hémocultures	<u>S. typhi</u> souche <u>qualies</u> , <u>per os</u>	Homme	LEVINE 1976 (313)
<u>S. typhimurium</u>	Souche M 206, avirulente	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> , souche <u>C5S</u> <u>per os</u>	Souris	IVANOFF 1976 (249)

CHAPITRE II

LES FRACTIONS ANTIGENIQUES

I INTRODUCTION

Depuis que l'intérêt de la vaccination contre les salmonelloses a été démontré, de nombreux chercheurs ont essayé d'extraire des bactéries des antigènes protecteurs pouvant remplacer avantageusement les vaccins classiques. On pouvait en effet espérer que de tels antigènes ne poseraient plus les problèmes délicats de conservation soulevés par les vaccins vivants et qu'ils se prêteraient, contrairement aux vaccins tués, à des opérations de purification susceptibles d'éliminer les fractions toxiques ou immunodépressives.

En fait, tout comme les autres bactéries, les salmonelles constituent, suivant l'expression de Charles NICOLLE, une véritable "mosaïque d'antigènes". Chez les bactéries à Gram négatif, c'est la membrane externe de la paroi ectoplasmique qui apparaît aujourd'hui comme étant le support anatomique d'une grande partie de ces antigènes, et plus particulièrement de l'antigène O ou antigène somatique.

La figure I, empruntée à COSTERTON et Coll. (123) traduit les conceptions actuelles concernant la structure de la paroi. Elle fait apparaître la diversité des éléments constitutifs de la membrane externe. Celle-ci contient en effet, liés à une trame phospholipidique, un lipopolysaccharide, des lipoprotéines et des protéines, dont certaines sont en réalité des glycoprotéines.

Ce schéma ne tient pas compte de l'existence éventuelle d'une capsule ou microcapsule entourant la paroi ectoplasmique. D'autre part, certains constituants cytoplasmiques présentent également des propriétés antigéniques et nous verrons que leur participation aux processus biochimiques responsables de l'immunité apparaît depuis peu comme étant de première importance.

Le nombre des antigènes décelables n'a fait que croître avec les progrès techniques réalisés dans l'analyse antigénique. L'interprétation des résultats obtenus dans le cas des salmonelles est malheureusement très difficile. La multiplicité des techniques d'extraction explique en partie le nombre élevé d'antigènes décelables. Mais la température d'incubation des bactéries et le pH du milieu de culture constituent d'autres facteurs d'hétérogénéité.

Considérant que le problème essentiel n'est pas de compter les antigènes d'une souche protectrice, mais d'identifier ceux qui jouent un rôle déterminant dans les processus immunitaires, après avoir examiné brièvement dans quelle mesure les lysats bactériens (qui sont des mélanges d'antigènes), vaccinent aussi efficacement que les bactéries vivantes, nous nous attacherons à décrire les méthodes d'extraction, la structure chimique et les propriétés biologiques des seuls constituants antigéniques qui sont aujourd'hui parfaitement définis.

STRUCTURE
DETAILLÉE

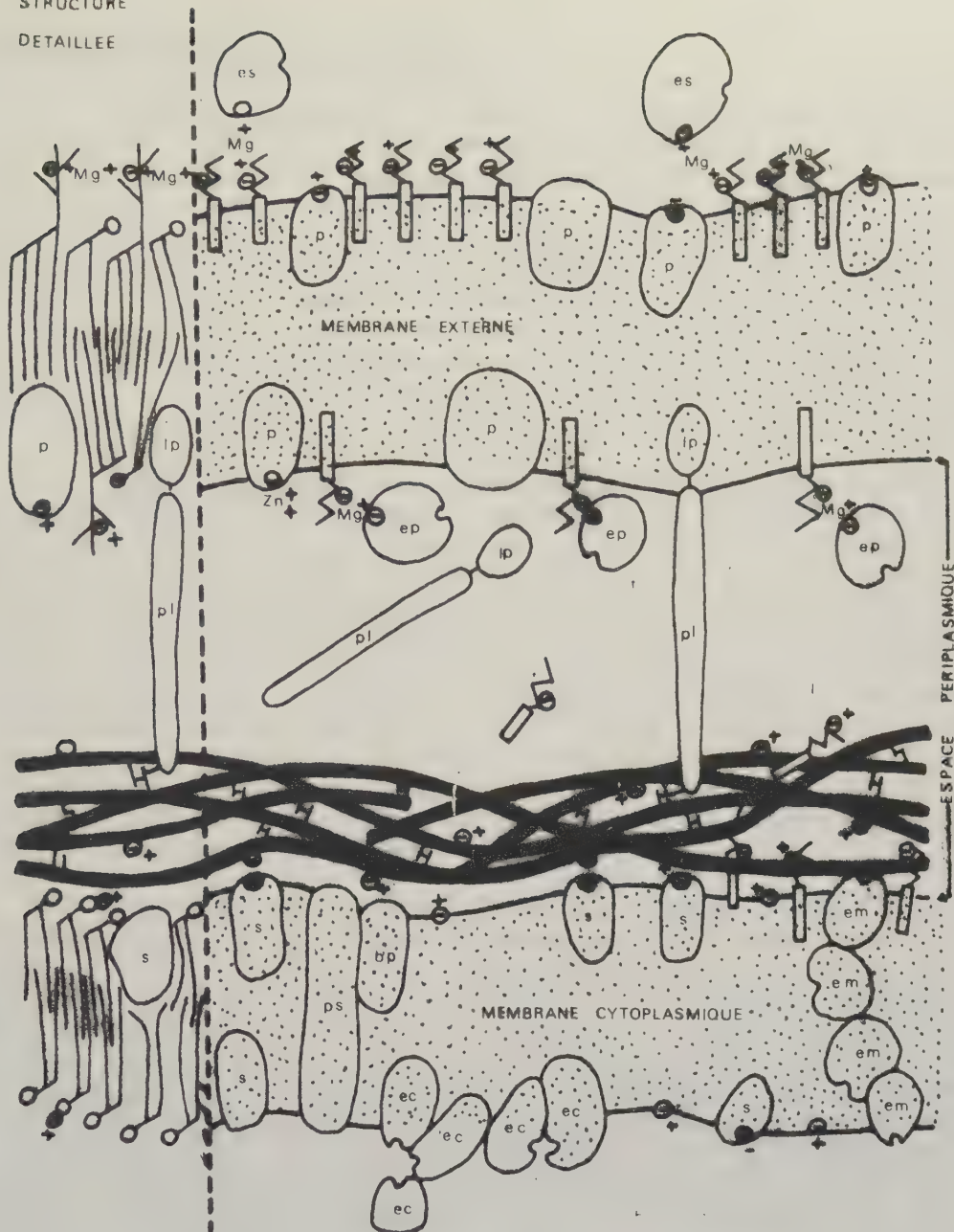


Figure 1 : Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif (d'après COSTERTON, INGRAM et CHENG (123)).

+ cation libre, - anion libre, $\oplus$ cation lié, $\ominus$ anion lié, $\oplus\ominus$ liaison ionique, $\dots$ zone hydrophobe, --- liaison covalente, --- polypeptide du peptidoglycane, --- polyside du peptidoglycane, --- protéine enzymatique active, --- phospholipide, --- LPS, --- LPS schématisé, bp protéine de liaison, ec enzyme de la membrane fonctionnant vers le cytoplasme, em enzyme de la membrane synthétisant des macromolécules de la paroi, ep enzyme de la zone périplasmique, es enzyme située à la surface, ep lipide de la lipoprotéine, p protéine structurale et enzymatique de la membrane externe, pl protéine de la lipoprotéine, ps perméase, s protéine de structure.

II EFFICACITE DES LYSATS BACTERIENS :

On peut constater, d'après le tableau V, que les premières tentatives* à l'aide de lysats bactériens remontent aux débuts-même de la vaccination contre les salmonelloses. Il s'agit, la plupart du temps, d'essais tout à fait empiriques, fondés sur l'idée que la destruction des corps bactériens démasquerait peut-être des antigènes protecteurs qui sont normalement dissimulés dans les bactéries entières et donc incapables d'induire la synthèse des anticorps spécifiques correspondants. Le fait que les sujets guéris de la typhoïde résistent bien à une réinfection ultérieure et les résultats expérimentaux démontrant la supériorité des vaccins vivants sur les vaccins inactivés constituent d'ailleurs des arguments en faveur d'une telle hypothèse.

CRONLY-DILLON (133) a étudié comparativement l'efficacité des bactéries entières inactivées, d'un broyat de ces bactéries obtenu à l'aide des ultra-sons, et d'un autre broyat réalisé à l'aide du désintégrateur de MICKLE, pour la protection de la souris contre une dose d'épreuve de S. typhimurium, administrée soit par voie orale, soit par voie intrapéritonéale. Elle constate que les bactéries inactivées, qui au départ protégeaient mal les animaux, se transforment en vaccin efficace après broyage à l'appareil de MICKLE. Elle attribue la supériorité de ce vaccin sur celui obtenu après action des ultra-sons au fait que le broyage en présence d'abrasifs, contrairement à la cavitation, conserve aux antigènes une structure particulière, les antigènes particuliers étant supérieurs aux antigènes solubles pour stimuler la production d'anticorps.

Une autre observation faite par CRONLY-DILLON (133) mérite d'être soulignée, à savoir que la vaccination à l'aide d'un filtrat stérile préparé à partir d'un homogénat de foies de souris ayant reçu auparavant une dose importante de bactéries pathogènes vivantes a pour effet de réduire la mortalité des animaux, lorsque ces derniers reçoivent une dose d'épreuve de bactéries virulentes par voie intrapéritonéale. Ces résultats sont à rapprocher de ceux d'OLITZKI (380) démontrant que S. typhi vaccine plus efficacement si la bactérie a été cultivée in vivo plutôt qu'in vitro et de ceux de KAWAKAMI (270) indiquant que S. enteritidis synthétise, lorsqu'elle se multiplie à l'intérieur de l'organisme hôte, un antigène protecteur que l'on ne retrouve pas dans les cultures effectuées in vitro.

III ETUDE DES PRINCIPAUX ANTIGENES :

I) L'antigène somatique.

A. Définition.

Au cours de l'infection par les bactéries à Gram-négatif, une endotoxine de nature glucido-lipido-protéique est libérée dans l'organisme, provoquant une série de manifestations plus ou moins graves suivant la concentration à laquelle elle se trouve. Il s'agit principalement d'une hyperthermie, d'une modification de la formule sanguine, de la stimulation de plusieurs systèmes hormonaux et enzymatiques, en particulier des enzymes protéolytiques, de l'activation de plusieurs systèmes cellulaires, en particulier du système réticulo-endothélial. Tous ces phénomènes induits chez les animaux supérieurs par des faibles doses d'endotoxine, traduisent une modification des moyens de défense contre l'infection.

* réalisées

Des doses plus élevées d'endotoxine provoquent une leucopénie importante, un ralentissement des mécanismes de défense, des lésions cellulaires graves et des réactions hémorragiques pouvant aboutir à un état de choc irréversible.

L'ensemble de ces réactions correspond à ce que l'on appelle les "propriétés endotoxines". Bien que leurs implications biochimiques et immunologiques soient importantes (108, 226, 267, 305, 514), nous ne les étudieront pas dans cet exposé, car elles ne sont pas spécifiques de l'espèce bactérienne dont provient l'endotoxine.

Mais celle-ci est également le support des propriétés antigéniques de l'antigène somatique O thermostable (32I). Elle provoque, au bout de quelques jours, l'apparition, dans le sérum des animaux, d'anticorps spécifiques de la bactérie. Nous examinerons donc son rôle éventuel dans l'immunité antitypho-paratyphoïdique.

B. Isolement et purification.

Depuis que BOIVIN et MESROBEANU (65) ont décrit pour la première fois, en 1933, une méthode générale d'extraction des endotoxines à partir des bactéries à Gram-négatif, de nombreuses techniques, faisant appel à des agents chimiques très divers ont été proposées pour effectuer cette opération, (cf. tableau VI). Si les produits ainsi obtenus présentent un ensemble de propriétés biologiques caractéristiques, leur composition chimique varie considérablement suivant la méthode d'extraction mise en oeuvre. La technique de BOIVIN, par exemple, fournit un complexe glucido-lipido-protéique, tandis que les méthodes de WESTPHAL (511) et de RIBI (415) conduisent à un lipopolysaccharide pratiquement exempt d'acides aminés.

La quantité de lipopolysaccharide que peut fournir une salmonelle varie très largement en fonction du procédé d'extraction utilisé. Le plus couramment employé est celui de WESTPHAL (513) qui consiste à soumettre les bactéries séchées à l'acétone, ou de préférence les parois ectoplasmiques, à une extraction par un mélange de 90 % de phénol et d'eau ($\frac{1}{4}$ V/V) à chaud (68°C) pendant cinq minutes et à séparer ensuite la phase aqueuse dont on élimine le phénol soit par dialyse, soit par extraction à l'éther. Le LPS obtenu est alors purifié par une ultra-centrifugation à 105.000 G, qui a pour effet d'éliminer les acides nucléiques contaminants, ces derniers restant dans le surnageant.

Cette technique fournit entre 1 et 4 % de LPS par rapport au poids sec des bactéries.

PROCEDE D'EXTRACTION	REFERENCES
Acide trichloracétique	: BOIVIN, MESROBEANU, 1933 (65)
Trypsination	: RAISTRIK, TOPLEY, 1934 (406)
Autolyse ds phénol à 2 %	: MILES, PIRIE, 1939 (358)
Diéthylène -glycol	: MORGAN, PARTRIDGE, 1940 (363)
Urée 2,5 M	: WALKER, 1940 (499)
Pyridine-eau	: GOEBEL et Coll., 1945 (200)
Eau chaude	: ROBERTS, 1949 (417)
Phénol-eau	: WESTPHAL et Coll., 1954 (511)
Détergent anionique	: COLOBERT, CREACH, 1960 (118)
Chlorure + citrate de Na	: RAYNAUD, DIGEON, 1960 (409)
Eau - éther	: RIBI et Coll., 1961 (415)
Pyridine - Ac. formique	: NOWOTNY, 1963 (379)
Détergent cationique	: "
Tris - HCl pH9	: BIDEAU et Coll., 1970 (62)
Phénol - eau - chloroforme - hexane	: GALANOS et Coll., 1969 (189)

Tableau VI - Principales méthodes d'extraction de l'endotoxine des bactéries à Gram-négatif.

C. Propriétés physiques.

Quel que soit leur mode d'extraction, les endotoxines se dissolvent dans l'eau en donnant des solutions opalescentes plus ou moins visqueuses. Leur teneur élevée en restes d'acide phosphorique est à l'origine de leur caractère polyanionique et explique leur grande affinité pour les macromolécules basiques telles que le lysozyme (512).

Leur poids moléculaire peut varier très largement en fonction du pH, des particules de 1×10^6 daltons pouvant s'associer jusqu'à former des agrégats de 2×10^7 daltons (433, 512).

L'étude de la morphologie des LPS à l'aide du microscope électronique fait apparaître une structure bilamellaire résultant d'une liaison hydrophobe entre deux couches de polysides et de lipides associés (433). Rien ne permet cependant d'affirmer que ces observations traduisent fidèlement l'organisation supramoléculaire du LPS dans la paroi ectoplasmique intacte.

D. Structure chimique.

Il est hors de question de présenter ici une analyse exhaustive des nombreux travaux se rapportant à la structure chimique des lipopolysaccharides des salmonelles. Plusieurs revues d'ensemble

ont déjà été consacrées à ce sujet (77, 199, 322, 512) et nous nous contenterons d'en dégager les idées essentielles.

Les lipopolysaccharides des salmonelles sont des hétéro-polymères linéaires riches en groupements phosphates, dans lesquels on peut distinguer trois régions différentes :

chaines O spécifiques	Squelette de base	Lipide A
Région I	Région II	Région III

La région I est formée de la répétition de sous unités oligosaccharidiques dont la spécificité sérologique dépend à la fois de la nature des glucides constitutifs et de la configuration des liaisons unissant ces derniers. Ces chainons glucidiques sont les supports de la spécificité immunologique des antigènes O correspondants. Ils sont liés au squelette de base de la région II, qui est un polysaccharide sensiblement identique pour toutes les salmonelles. Enfin ce dernier est lui même rattaché à la région III qui correspond au lipide A, où des ponts pyrophosphates relient entre elles des sous unités dissaccharidiques formées de deux restes de glucosamines liés par une liaison beta 1-6. Le caractère lipidique résulte de l'estérification des fonctions alcool libres par les acides laurique, palmitique et 3 D myristoxymyristique et de l'amidification des fonctions amines par l'acide 3 D hydroxymyristique.

La mutation S (smooth) → R (rough) correspond chez les salmonelles à la disparition des oligosides terminaux spécifiques, voire même des glucides constitutifs du squelette fondamental, du fait de la perte, chez la souche mutante, de la capacité de synthèse de certaines enzymes du métabolisme glucidique. La figure 2, empruntée à GERMANIER, résume les variations possibles de la structure du lipopolysaccharide chez S. typhimurium (I93).

E. Propriétés biologiques.

a) Toxicité.

L'ingestion de doses raisonnables d'endotoxine n'est généralement suivie d'aucun effet, aussi bien chez l'homme que chez l'animal (359). En revanche, la plupart des mammifères répondent par un choc léthal à l'administration de faibles doses d'endotoxine par voie parentérale. La sensibilité des animaux peut varier considérablement en fonction de l'espèce, voire de l'individu, de l'âge et de l'état physiologique. A titre d'exemple la DL 50, qui est d'environ 23,4 microgrammes par kg. pour le lapin, est évaluée à 22.090 microgrammes par kg. pour la souris, soit une dose mille fois plus élevée.

Les animaux nouveaux-nés sont généralement plus sensibles à l'endotoxine que les adultes, mais il existe des exceptions à cette règle (359). D'autre part, les injections répétées de doses sublétales d'endotoxine rend les animaux réfractaires à cette dernière ; c'est le phénomène de tolérance.

La toxicité des endotoxines n'est que la conséquence des nombreuses lésions biochimiques induites dans l'organisme par cette dernière. Nous n'aborderons pas ici ce problème qui a déjà été largement étudié (52, 230, 369).

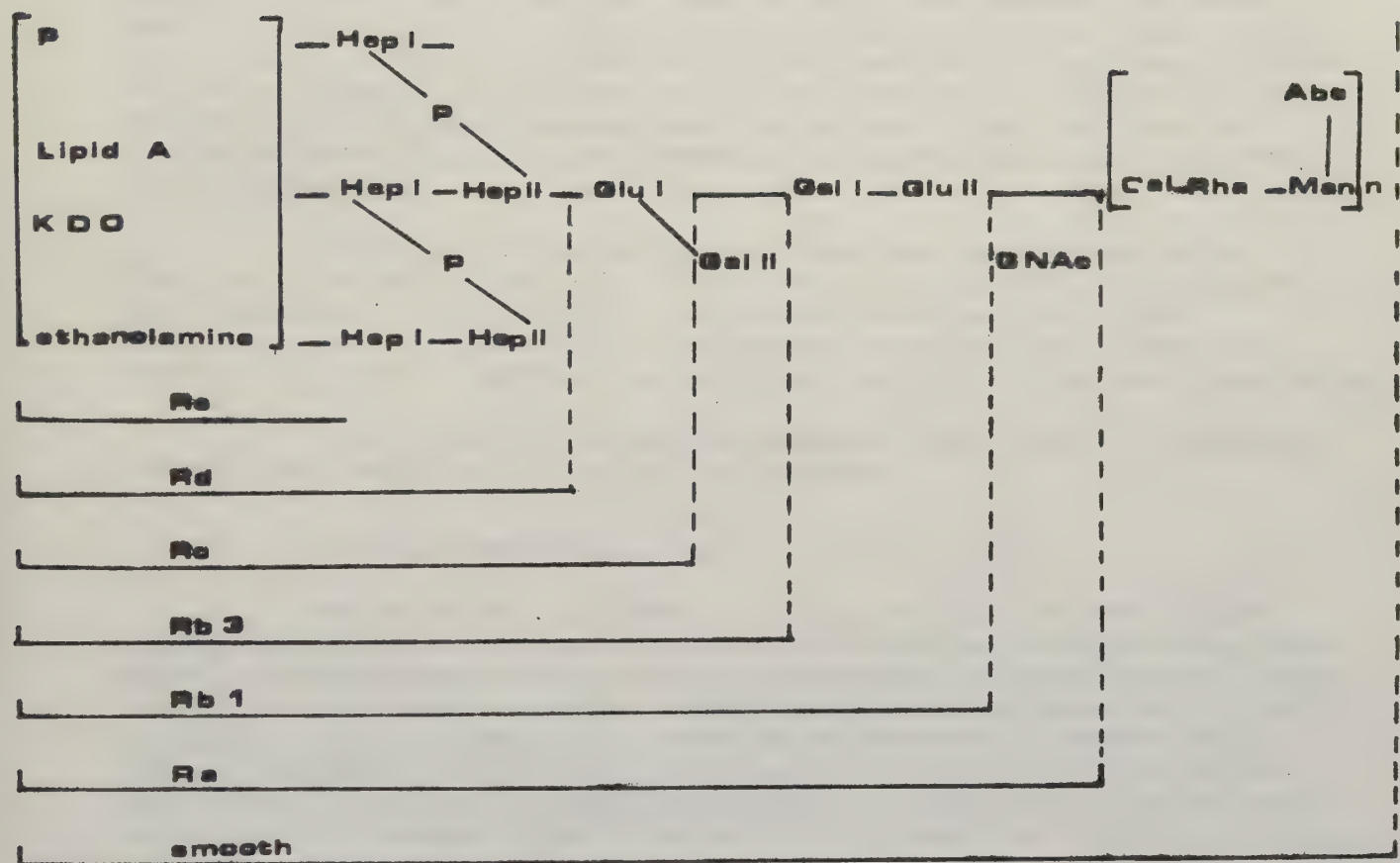


FIGURE 2 : Structure du lipopolysaccharide (LPS) de *Salmonella typhimurium* (193).

- KDO : acide 2 - ceto - 3-désoxy-D mannooctulosonique ;
- Hep : L-glycero-D manno-heptose ;
- Glu : D glucose ; Gal : D-galactose ;
- GNAC : N-acetyl - D - glucosamine ;
- Rha : L-rhamnose ; Man : D-mannose ;
- Abe : abequose.

Pour WESTPHAL (512), la toxicité des lipopolysaccharides est liée à la présence du lipide A, ce dernier étant le "toxophore" de la molécule. Effectivement la désacylation partielle de celle-ci entraîne une diminution considérable de la toxicité, tout en conservant la plupart des autres propriétés. Cependant NOWOTNY (378) et MILNER (359) estiment que le pouvoir létal résulte de la conformation de la molécule toute entière plutôt que de l'existence d'un groupement toxophore.

b) Pouvoir pyrogène

L'injection d'endotoxine provoque chez la plupart des mammifères une hyperthermie importante, l'homme et le lapin étant particulièrement sensibles à cette pyrogénicité. Chez le lapin, par exemple, une dose aussi faible que 1.10^{-9} g/Kg, par voie intraveineuse, suffit pour induire une réaction fébrile significative. L'importance et la durée de la fièvre varient en fonction de la dose. Lorsque celle-ci est suffisante, la courbe de température présente généralement une allure biphasique, avec un premier clocher situé vers une heure et un second, plus important, vers la troisième heure.

Des doses élevées provoquent cependant une réponse moins importante, et au voisinage de l'effet létal, on observe habituellement une hypothermie. D'autre part, la réaction thermique peut varier considérablement en fonction de l'espèce animale utilisée ; ainsi les souris et les rats répondent par une hypothermie à l'injection d'endotoxine.

L'effet pathogène des endotoxines a donné lieu à de nombreux travaux dont SNELL (448) a publié une synthèse.

c) Activation de l'immunité non spécifique.

TEAGUE et Mc. WILLIAMS (465) avaient déjà observé en 1917 qu'une injection intraveineuse de bacilles typhiques inactivés avait pour effet d'augmenter au moins de vingt quatre heures la résistance du lapin vis à vis de la souche vivante. ROWLEY (418) devait montrer en 1955 qu'il s'agissait là d'une propriété générale des bactéries à Gram-négatif. L'année suivante il identifiait le support chimique de cette activité, qui n'était autre que le lipopolysaccharide ou endotoxine (419). En fait, celui-ci doit lui-même cette propriété à la présence du lipide A. (240)

L'immunité non spécifique se développe généralement suivant un processus biphasique. Après une diminution passagère de vingt-quatre heures, elle augmente pendant une période de cinq jours environ. Sa durée ne dépasse pas deux semaines chez l'animal ; d'autre part, elle n'est pas modifiée par des injections répétées de lipopolysaccharide. Elle se manifeste vis à vis d'un large éventail de germes pathogènes comprenant aussi bien des bactéries à Gram-négatif et à Gram-positif que des virus et des protozoaires.

Si l'activation de l'immunité non spécifique est facile à mettre en évidence, il est en revanche difficile d'expliquer le phénomène, compte tenu de la multiplicité des facteurs susceptibles d'intervenir. Nous n'aborderons pas ici ce problème qui a déjà été discuté par de nombreux auteurs (106, 127).

d) Propriétés adjuvantes.

Dès 1926 RAMON et ZOELLER (406^b) avaient constaté que l'addition du vaccin antityphique à l'anatoxine tétanique augmente le taux d'antitoxines dans le sérum, lorsque ces deux substances sont injectées ensembles. De nombreux travaux effectués depuis 1940 ont montré que ce pouvoir adjuvant est une propriété générale des bactéries à Gram-négatif. Injectées à un animal en même temps qu'une protéine antigénique, ou un haptène associé à une protéine, celles-ci exaltent en effet la réponse immunitaire : les anticorps spécifiques apparaissent plus tôt, augmentent plus rapidement et atteignent des taux plus élevés. L'isolement et l'identification du principe actif a permis de constater que celui-ci n'était autre que le lipopolysaccharide, le lipide A purifié ayant encore les propriétés adjuvantes de la molécule entière.

Le mécanisme de l'effet adjuvant des endotoxines a été très largement étudié. Des nombreuses revues d'ensemble consacrées à ce problème (127, 257), nous retiendront seulement qu'il s'agit d'un phénomène indirect. L'endotoxine provoque la lyse de certaines cellules au niveau des organes lymphoïdes, libérant des fragments d'acides nucléiques qui sont les véritables stimulants des cellules immunocompétentes.

e) Pouvoir antigénique.

Une des propriétés remarquables de l'endotoxine est d'induire chez l'animal la formation d'anticorps dont la spécificité est déterminée par la structure des chaînes oligosaccharidiques du lipopolysaccharide. La spécificité des antigènes O constitue la base principale de la classification sérologique des différentes espèces de salmonelles, suivant le schéma de KAUFFMAN-WHITE (268^b).

Si on la juge d'après le taux d'agglutinines O circulantes, la réponse immunitaire consécutive à une seule injection d'endotoxine est faible aussi bien chez la souris que chez le lapin et l'homme (301). Mais il a été démontré en ce qui concerne les souris, qu'il existe des variations considérables en fonction de la souche et même des individus. Des différences notables ont pu également être relevées en fonction de la technique utilisée pour l'extraction de l'endotoxine ainsi que de la souche bactérienne dont provient le lipopolysaccharide (359).

Les réponses secondaires à des injections répétées d'endotoxine, convenablement espacées, sont, au contraire, spectaculaires, en particulier chez la souris.

On a cru au début que ces antigènes induisaient essentiellement la synthèse de macroglobulines Ig S (IgM). Il est actuellement démontré qu'elles provoquent également une augmentation du taux des Ig G_{7S} ; les faibles taux observés dans les travaux précédents étant le résultat d'un manque de sensibilité des méthodes de dosage utilisées (359).

f) Pouvoir protecteur.

Que le lipopolysaccharide complet joue un rôle déterminant dans le pouvoir protecteur des vaccins bactériens, c'est là un fait aujourd'hui bien établi. Au cours d'essais d'immunisation de la souris à l'aide de bactéries vivantes, GERMANIER (196) a en effet constaté que seules vaccinent efficacement les souches sauvages atténuées possédant un antigène O complet, ou les mutants R capables de subir une réversion

phénotypique in vivo. Ces derniers ne disposent plus de la totalité de l'équipement enzymatique nécessaire à la synthèse des glucides constitutifs de l'antigène O. Ils peuvent néanmoins fabriquer un polysaccharide spécifique complet à partir des glucides présents dans l'organisme hôte, étant bien entendu que ces souches se lysent ensuite assez rapidement dans l'organisme (194).

Faut-il dès lors considérer l'endotoxine comme étant l'antigène protecteur des salmonelles ? Tous les résultats expérimentaux prouvent qu'il n'en est rien. L'absence de relation entre le pouvoir protecteur effectif des vaccins et leur aptitude à provoquer, tant chez l'homme que chez les animaux, l'apparition d'agglutinines O est une constatation déjà ancienne (cf. CIRODDE (102)) mais qui a été refaite encore récemment et de manière irréfutable aussi bien lors d'études effectuées sur le terrain (BENENSON (42)) qu'au cours d'essais réalisés en laboratoire chez la souris (STERNE et TRIM (459), IVANOFF (249, 250)) ou sur des sujets volontaires (HORNICK (296)). On pourrait cependant ajouter que l'endotoxine est susceptible de mettre en jeu d'autres mécanismes immunitaires à la fois spécifiques et efficaces. Notons tout de suite que les essais de vaccination à l'aide de lipopolysaccharides purifiés ont été relativement peu nombreux, du fait probablement de la toxicité et des autres effets secondaires gênants de ces molécules. Les premiers résultats obtenus avaient paru encourageants. LANDY et Coll. (300) montraient d'abord, en 1955, que les sérums de lapins immunisés à l'aide de l'antigène O purifié extrait de S. typhi O 901 confèrent à la souris une protection passive contre une injection de S. typhi 58 contenant de la mucine. Des études ultérieures aboutissaient à la conclusion que l'antigène O pourrait protéger efficacement la souris contre une dose d'épreuve de S. typhi ou S. paratyphi A ou B, la voie orale étant aussi efficace que la voie parentérale pour la vaccination (PERSHIN (391), KOLOBOVA (287), De BARBIERI et Coll. (143), HOOK (234)). En fait, ces conclusions optimistes reposent sur un système expérimental inadéquat. Lorsque des études similaires furent reprises en utilisant comme bactéries d'épreuve S. enteritidis ou S. typhimurium, il fallut admettre que l'antigène O ne protégeait pas la souris contre les salmonelles naturellement pathogènes pour les rongeurs (KAWAKAMI (270, 271)). Entre temps GAINES et Coll. (187), TULLY et Coll. (480) avaient déjà constaté que l'endotoxine purifiée ne protégeait pas le chimpanzé contre une fièvre typhoïde expérimentale.

Comment expliquer alors la nécessité de la présence de l'antigène O dans les vaccins bactériens vivants, pour que ces derniers soient efficaces ? GERMANIER (196) pense que l'activité phagocytaire des macrophages ne peut être induite que par des bactéries vivantes possédant un lipopolysaccharide complet. Rien n'interdit de croire comme IVANOFF (249) que le lipopolysaccharide intervient plutôt dans la vaccination d'une manière indirecte. Il est bien connu, par exemple, que l'endotoxine complète protège les salmonelles contre la lyse par l'association anticorps-complément (500). Sa présence dans les vaccins vivants prolonge donc l'effet antigénique des constituants doués véritablement d'un pouvoir protecteur.

2) L'antigène Vi.

A. Mise en évidence.

Après que de nombreux auteurs aient pu décrire, à partir de 1920 (se rapporter à l'article de JUDE (262)), l'existence de salmonelles O inagglutinables, en général fraîchement isolées d'épidémies, FELIX et

PITT furent les premiers à montrer que cette inagglutinabilité était due à la présence d'un antigène de surface (I66). Ils établirent ensuite un parallèle entre l'existence de cet antigène et la virulence de la bactérie (I67), ce qui avait déjà été soupçonné par GRINNEL (214). Ils nommèrent alors cet antigène Vi (pour virulence) (I68), appellation qui fut ratifiée par KAUFFMANN (268). L'antigène Vi est présent dans certaines souches fraîchement isolées de Salmonella typhi (8, I69) et de Salmonella paratyphi C (268) ainsi que chez d'autres entérobactéries : Escherichia coli, Paracolonobacterium ballerup, Citrobacter ...

Le fait que les souches Vi + (O inagglutinables, Vi agglutinables) deviennent après un certain temps de conservation au laboratoire, Vi - (O agglutinables, Vi inagglutinable) conduisit KAUFFMANN à élaborer le schéma de la transformation $V (=Vi+) \rightarrow W (=Vi-)$ (268) :

V (O inagglutinable) $\rightarrow V W$ (O et Vi agglutinable) $\rightarrow W$ (Vi inagglutinable), la forme $V W$ étant un mélange en proportions variables des formes V et W .

SCHOLTENS (427) rattacha ce schéma à la variation Smooth $\rightarrow$ Rough.

B. Localisation.

Pour expliquer l'inagglutinabilité O, KAUFFMANN (268) place l'antigène Vi à la surface de la bactérie et le considère comme faisant partie du groupe des antigènes K (269). BHATNAGAR et Coll. (61) montrent que la coloration à l'encre de chine de frottis réalisés avec des souches riches en antigène Vi met en évidence autour des bactéries un espace non coloré, ayant l'aspect d'une enveloppe gélatineuse. Utilisant la méthode de coloration des capsules par mordantage au chlorure ferrique décrite par ANDO et NAKAMURA (11), SHIMOJO (435) constate que toutes les bactéries de forme V possèdent une capsule alors que les formes W correspondantes n'en possèdent pas.

Plus récemment, la microscopie électronique a permis d'observer que Salmonella Typhi (forme V) présente une enveloppe superficielle paraissant essentiellement liée à la présence de l'antigène Vi et disparaissant, lorsqu'on lui fait subir un chauffage ménagé. Cette enveloppe n'existe pas dans les formes W (529).

Vi appartient donc au groupe des antigènes capsulaires, extérieurs à la bactérie.

C. Extraction - purification.

Après les premières tentatives d'HENDERSON et MORGAN (225) et de BOIVIN et MESROBEANU (66) qui ne donnaient que des extraits imparfaitement purifiés, ASHIDA le premier (24) isole Vi par acidification du surnageant obtenu après centrifugation d'un extrait salin de bactéries tuées à l'acétone et desséchées. Cet extrait réagit avec les anticorps spécifiques de Vi mais a perdu toute propriété immunogène, c'est-à-dire la capacité de faire produire des anticorps par les animaux de laboratoire. Parmi les nombreuses méthodes qui ont été proposées ensuite pour la purification de cet antigène, nous citerons celles de :

- WEBSTER et LANDY (502) : traitement à l'acétone et hydrolyse acétique de l'extrait salin ;

- BAKER et Coll. (29) : action du diéthylène glycol et du propylène glycol sur les bactéries tuées à l'acétone et desséchées.

- De BARBIERI et Coll. (142) : hydrolyse tryptique et pepsique, puis traitement à l'acétone et filtration sur colonne de permutite.

- WONG et Coll. (524) : digestion enzymatique de l'extrait salin puis concentration par l'action du bromure d'hexadécyl-triméthyl-ammonium (CTAB ou Cétavlon).

- BAKER et WHITESIDE (31) : action de l'alcool sur l'extrait salin ou hydrolyse acétique de cet extrait avant séparation par le Cétavlon et électrodialyse.

- JARVIS et Coll. (252) : double électrophorèse, sur papier puis sur céramique après traitement à la ribonucléase.

Ces produits, étudiés par électrophorèse, se révèlent homogènes. Du point de vue sérologique ils possèdent la seule spécificité antigénique Vi ; enfin ils ont le pouvoir d'induire la synthèse des anticorps spécifiques anti-Vi, à des taux plus ou moins importants (WONG (524)).

D. Propriétés physico-chimiques.

L'antigène Vi était considéré comme thermolabile après les études de FELIX (167, 168, 173), car les bactéries de forme V deviennent Vi inagglutinables après chauffage à 100 ou même à 60°.

Mais SMITH (438) a montré qu'à 60° Vi se dissout dans le liquide de suspension, celui-ci étant capable de fixer les anticorps anti-Vi, même après chauffage à 100° pendant une heure ou à 120° pendant quinze minutes. Ces résultats ont été confirmés par BOIVIN et MESROBEANU (68). En revanche PELUFFO (389) a constaté que Vi ne passe pas en solution lorsque les bactéries sont chauffées dans l'alcool ou dans l'éther. Il a noté également qu'une culture desséchée ne perd pas son agglutinabilité Vi après chauffage. Pour CHU et Coll. (95, 97), lorsque Vi passe en solution après chauffage, il garde sa spécificité antigénique mais perd son pouvoir immunogène.

L'antigène Vi purifié est un produit solide, blanc, amorphe, soluble dans l'eau et l'éthylène glycol, peu soluble dans le méthanol, insoluble dans les solvants organiques usuels (JARVIS (252)).

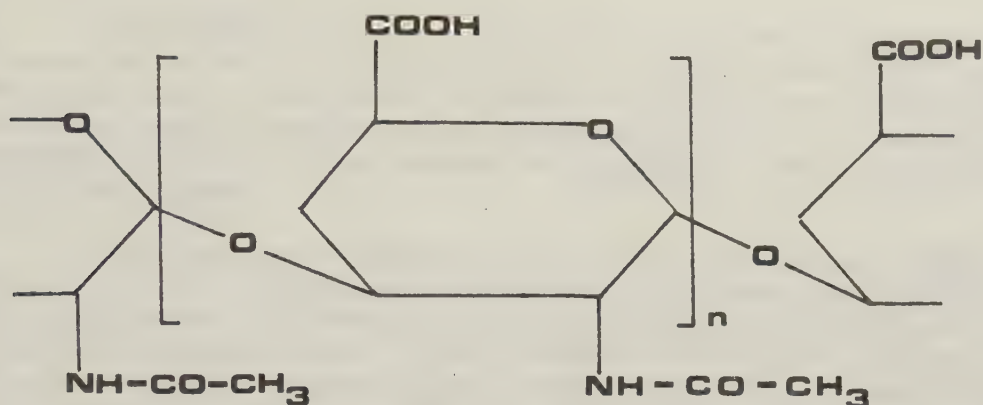
D'après WEBSTER et Coll. (504), les antigènes Vi purifiés provenant de E. coli, P. ballerup et S. typhi ont la même mobilité électrophorétique et la même constante de sédimentation. Ils estiment leurs poids moléculaires à un million environ. BAKER et Coll. (29) confirment ces résultats et trouvent une composition chimique identique.

Toutefois ALEKSANDER et Coll. (6, 7, 324) qui ont étudié par chromatographie d'exclusion sur Sephadex G 200 et sur Sepharose 4 B l'homogénéité de l'antigène Vi de S. typhi purifié et marqué à l'iode I3I concluent que cet antigène est polymorphe.

E. Composition et structure chimique.

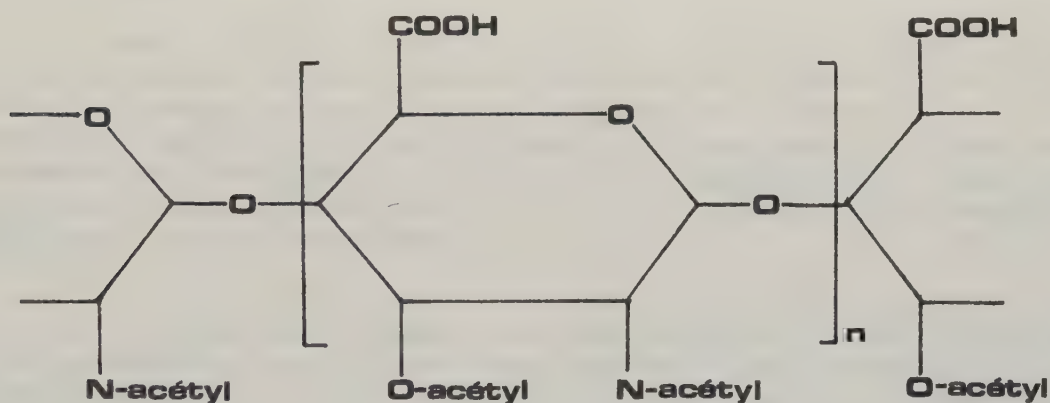
D'après WEBSTER et Coll. (503), l'hydrolyse acide de l'antigène Vi purifié libère des résidus d'acide aminohexuronique. L'étude des produits d'hydrolyse par chromatographie sur papier et spectroscopie

infra rouge amène CLARK et Coll. (104) à conclure qu'il s'agit d'un acide N acétyl aminohexuronique pour lequel De BARBIERI (141) propose la structure suivante :



Selon STAUB et Coll (456, 457), Vi serait un polysaccharide acide hautement polymérisé formé de monomères d'acide O-acétyl, N-acétyl D galactosaminurorique, le N-acétyl étant vraisemblablement un N-acétyl (473).

La formule serait donc :



F. Propriétés biologiques.

a) Toxicité- pyrogénicité.

Tous les auteurs reconnaissent que l'antigène Vi purifié (donc débarrassé de toute trace d'endotoxine) ne présente ni toxicité ni effet pyrogène lorsqu'il est injecté au lapin par voie intraveineuse (30, 31, 142, 342). Des doses importantes (10 mg) n'ont aucun effet toxique chez la souris (342).

De même des injections sous cutanées pratiquées chez des volontaires (236), des jeunes enfants (396) ou administrées sous forme de tablettes, per os, à des adultes (291, 312) n'ont été suivies d'aucune réaction.

b) Le rôle de Vi dans la virulence.

Bien que FELIX (167) ait cru déceler un parallélisme entre la présence de l'antigène Vi et la virulence de certaines salmonelles, KAUFFMANN (269) a montré qu'une souche de S. typhi non pathogène pour la

souris sous sa forme W, ne l'est pas davantage si elle possède Vi, et que S. paratyphi C qui est très pathogène pour la souris ne l'est pas plus sous forme V que W.

Pour BATSON et Coll. (38) il n'y a aucune corrélation entre la présence de Vi et la virulence de la souche. BENSTED (44) compare la virulence chez la souris et la gravité de l'épidémie humaine provoquées par une même souche de salmonelles et ne peut trouver de relation entre elles. FELIX (172) isole une souche de S. typhi (forme W) responsable d'une épidémie grave.

Cependant pour ORSKOV (385) la virulence d'une souche est d'autant plus forte pour la souris que son équipement antigénique est plus complet. BHATNAGAR (60) démontre que l'existence de Vi entraîne une résistance à la phagocytose ; pour JUDE et NICOLLE (263), Vi est responsable de la virulence en entraînant une résistance à la phagocytose et au pouvoir bactéricide du sérum. FELIX et PITT (170), étudiant diverses formes antigéniques de S. typhi (Vi + O +, Vi + O -, Vi - O +, Vi - O -) pensent que la virulence dépend de la présence simultanée des deux antigènes à la surface de la bactérie ; Vi protégerait O contre la fixation des anticorps anti - O et préserverait la bactérie de la phagocytose et du pouvoir bactéricide du sérum. COLOBERT et KIRN (119) constatent que l'antigène Vi protège S. typhi contre la lyse par le sérum de sujets humains normaux.

Enfin SITPRIJA et Coll. publient en 1974 (437) les résultats de trois ponctions biopsies rénales chez des sujets atteints de fièvre typhoïde et présentant une albuminurie minime et asymptomatique ; à côté de complexes inhumains et de la protéine C₃ du complément, ils ont prouvé la présence de l'antigène Vi dans les parois glomérulaires. Ceci peut faire poser le problème du rôle de Vi dans la genèse des néphropathies typhoïdiques ou post vaccinales.

Le rôle de Vi dans la virulence semble donc assez mal élucidé. S'agit-il de l'agent responsable de cette virulence (ce qui semble assez peu vraisemblable compte tenu de son innocuité totale lorsqu'il est injecté pur, et du fait que de nombreuses épidémies sont causées par des souches Vi-) ; accroît-il cette virulence (ce qui expliquerait sa présence sur des germes fraîchement isolés de cas humains) ou enfin n'a-t-il rien à voir avec la virulence de la souche qui le possède ? Il semble assez malaisé de conclure à la lueur des faits contradictoires que nous venons d'exposer.

c) Pouvoir antigénique.

Tous les auteurs se trouvent d'accord pour conclure que l'injection d'un antigène Vi purifié et non altéré provoque l'apparition d'anticorps complets chez la souris (67, 186, 252, 302) mais non -ou peu- chez le lapin (30, 252). Chez l'homme il induit la formation d'anticorps spécifiques (142, 299, 304, 396). Le taux de ces derniers est plus fort lorsque Vi est lié à la bactérie (297, 518).

Le déterminant antigénique est thermostable, mais le pouvoir immunogène disparaît après chauffage (CHU et Coll. (95, 97), SMITH (438)). MARTIN et Coll. (342) constatent d'autre part que la dépolymérisation de Vi par les ultrasons entraîne une diminution de son pouvoir antigénique. Ces résultats sont en accord avec ceux de ALEKSANDER et Coll. (6, 7, 324) montrant que les fractions de Vi de poids moléculaire élevé sont les plus

antigéniques et confirment les observations de KABAT et BEZER (264) concernant les dextranes.

LANDY et Coll. (304) ont constaté que la diacétylation de Vi par la soude rend ce dernier insoluble dans l'eau et lui enlève sa spécificité antigénique. Après réacétylation par le cétène, le produit obtenu retrouve sa solubilité et la moitié environ de sa capacité d'inhiber l'agglutination des hématies sensibilisées en présence d'antisérums spécifiques. Il est intéressant de noter que le pouvoir protecteur chez la souris pas plus que le pouvoir antigénique chez l'homme ne sont modifiés par la désacétylation.

WHITESIDE et BAKER (31, 518) ainsi que LANDY et WEBSTER (297) constatent que les antigènes Vi de S. typhi, S. paratyphi C, E. coli et P. ballerup se comportent d'une manière identique en immunodiffusion sur gélose. Il semble donc que l'antigène Vi des entérobactéries est une molécule qui se différencie peu d'un germe à l'autre et qui n'a pas de spécificité antigénique pour un genre donné, pas plus qu'il n'a, nous l'avons vu, de caractères physico chimiques distincts.

d) Pouvoir protecteur.

De nombreuses études ont été réalisées chez la souris pour vérifier le pouvoir protecteur de l'antigène Vi purifié (30, 142, 188, 252, 297, 302, 304, 518, 525, 526). Tous ces travaux où l'on adopte comme critère d'efficacité la résistance à l'inoculation d'une dose d'épreuve de salmonelles Vi + (comme S. typhi Ty 2) par voie intrapéritonéale, concluent que la protection conférée par cet antigène est très bonne (jusqu'à 100 % de survie). Des essais de vaccination de la souris contre de telles salmonelles, effectuées à l'aide d'une souche de E. coli Vi +, ont donné également des résultats favorables (390). D'aucuns ont cru pouvoir trouver dans ces expériences la preuve que l'antigène Vi est l'antigène protecteur des salmonelles. Quel crédit peut-on accorder à cette interprétation ?

Il convient d'abord de rappeler que le modèle expérimental utilisé est critiquable, dans la mesure où S. typhi n'est pas un agent pathogène naturel de la souris. Un tel système permet tout au plus d'affirmer que les anticorps spécifiques de Vi protègent cet animal contre les salmonelles Vi +. STERNE et TRIM (459) constatent que chez la souris l'efficacité de la protection contre une dose d'épreuve de S. typhi Ty 2 est effectivement parallèle à l'élévation puis à la diminution du taux des anticorps anti Vi. Mais, dans le cas des salmonelles, le caractère Vi + est tout à fait contingent. D'autre part, son absence n'implique pas nécessairement l'absence de virulence de la souche. Dès lors on voit mal comment l'antigène Vi vaccinerait efficacement contre une souche pathogène dépourvue de cet antigène. Certains résultats obtenus chez la souris viennent d'ailleurs étayer cet argument. C'est ainsi que DIENA et Coll. (149, 150, 151) ont échoué dans leurs tentatives de protéger cet animal, à l'aide de l'antigène Vi ou de vaccins tués le contenant, contre un hybride pathogène de S. typhi et S. typhimurium, tandis que STANDFAST (453) a pu vacciner efficacement la souris contre une salmonelle Vi +, en utilisant comme vaccin S. typhi 550I qui est dépourvue de cet antigène.

Les résultats obtenus chez l'homme constituent également un argument décisif contre l'attribution d'un rôle majeur à l'antigène Vi. Si PUTRIN (396), vaccinant en région d'endémie à l'aide d'antigène Vi purifié, a relevé huit fois moins de cas de fièvre typhoïde chez les vaccinés que chez les témoins, sachant le manque de précision des résultats

obtenus sur le terrain, nous attacherons plus d'importance aux travaux de HORNICK et Coll. (236). Ces auteurs n'ont pas réussi à protéger, à l'aide d'un antigène Vi purifié, des sujets volontaires contre une dose d'épreuve de S. typhi qu'elles administrée per os.

Si l'antigène Vi était protecteur pour l'homme, il y aurait vraisemblablement un parallélisme entre le taux d'anticorps sériques correspondants et la résistance à l'infection. Or BENENSON (42), en particulier, a démontré l'absence d'une telle corrélation. Ceci explique donc que les mêmes vaccins utilisés par MARMION (341) sur le terrain et par STERNE et TRIM (459) chez la souris aient donné des résultats diamétralement opposés.

3) L'antigène commun des entérobactéries (=E.C.A.)

A. Mise en évidence.

La découverte de l'antigène commun des entérobactéries est relativement récente puisqu'elle ne date que de 1962. Etudiant la structure antigénique des colibacilles responsables de certaines infections urinaires, KUNIN (293) devait constater que la plupart des antigènes somatiques extraits de 145 souches différentes d'Escherichia coli, qui couvraient presque toute la gamme des sérotypes O connus possédaient un déterminant antigénique identique. Parallèlement, il mettait en évidence cet antigène commun chez un grand nombre d'entérobactéries, et en particulier chez les salmonelles, tandis que les autres bactéries à Gram-négatif et l'ensemble des bactéries à Gram-positif paraissaient dépourvues de ce constituant.

Une certaine confusion devait naître ultérieurement du fait de la possibilité pour cet antigène d'exister sous deux formes distinctes. Si celui-ci est en effet présent chez quelques souches bactériennes, telles que E. coli O 14, sous une forme immunogène résultant d'une liaison covalente avec le lipopolysaccharide, il se comporte dans la majorité des cas comme un simple haptène, la molécule porteuse étant alors différente du lipopolysaccharide (=LPS) .

B. Localisation cellulaire.

La place de l'E.C.A. dans la bactérie est encore mal connue. Il semble qu'une partie de l'antigène se trouve à la surface de la cellule, au niveau de la membrane externe. Cette hypothèse s'appuie sur un certain nombre d'observations telles que la facilité de dissolution de l'antigène dans le milieu extérieur (293), la possibilité pour les anticorps anti E.C.A. de se fixer sur la bactérie intacte (16), la présence de l'E.C.A. dans les sphéropastes de S. typhi, dont la paroi ectoplasmique est réduite à l'enveloppe superficielle, l'enveloppe interne rigide étant absente (515).

Les études effectuées sur des fractions cellulaires n'ont pas permis jusqu'à présent de clarifier le problème. Si elles confirment la présence de l'E.C.A. au niveau de l'enveloppe externe, elles montrent que cet antigène existe également dans les autres fractions, et en particulier dans la phase cytoplasmique soluble. On peut penser qu'il s'agit d'une contamination due à la grande solubilité de l'E.C.A., lorsque ce dernier est sous forme d'haptène (155).

C. Isolement et purification.

On peut dire que chaque auteur utilise une technique différente pour extraire et purifier l'E.C.A. Il est donc difficile de comparer les diverses préparations.

La méthode au phénol de WESTPHAL (510) permet d'extraire l'E.C.A. en même temps que le L.P.S., à partir des bactéries où l'E.C.A. est sous forme antigénique. Pour purifier l'E.C.A. contenu dans cet extrait brut, KUNIN (294) utilise la chromatographie par échange d'ions sur colonne de DEAE-cellulose avec une élution par un gradient de Na Cl, tandis que HAMMARSTROM (219) fait appel à une chromatographie d'exclusion sur Sepharose 4 B. Alors que le produit obtenu par KUNIN est exempt de L.P.S., l'E.C.A. préparé par HAMMARSTROM lui est lié. Il en est séparé par une hydrolyse alcaline puis une hydrolyse acide ménagée, suivie elle-même d'une chromatographie sur Sephadex G. 50.

D'autres méthodes ont été proposées pour extraire l'E.C.A. à partir des souches où il se trouve sous forme d'haptène, ce qui est le plus souvent le cas pour les salmonelles. JOHNS (256) soumet les bactéries à une extraction par l'eau à la température ordinaire et précipite par l'acide picrique les protéines contenues dans cet extrait. l'E.C.A. resté dans le surnageant est alors précipité par l'acétone, redissous dans un tampon, dialysé puis purifié par chromatographie sur Sephadex G. 200. Mc LAUGHLIN (332) fait suivre l'extraction par une solution saline à chaud d'une précipitation fractionnée par l'éthanol, tandis que MARX (345) utilise l'éthanol à chaud pour extraire l'antigène qu'il purifie ensuite par précipitation à l'acétone et chromatographie sur Sephadex G. 75. MANNEL et MAYER (cités in 336) ont décrit récemment une technique nouvelle comportant successivement une extraction à chaud par un mélange phénol-eau, une reprise de la phase aqueuse par un mélange phénol-chloroforme-éther de pétrole et une chromatographie par échange d'anions.

D. Structure chimique.

La structure chimique de l'E.C.A. est loin d'être éclaircie. La diversité des souches bactériennes et des techniques d'extraction et de purification utilisées est sans nul doute à l'origine des résultats discordants enregistrés jusqu'à présent. Pour nous limiter au cas des salmonelles nous relèveront que l'E.C.A. extrait de S. typhimurium TV I49 par MARX et PETROVICI (345) est une macromolécule de caractère anionique très marqué, formée principalement de protéines, de glucosamine et de glucose mais contenant du glycérol, de l'éthanolamine, du phosphore et des acides gras.

L'E.C.A. isolé par MANNEL et MAYER (cités in 336) à partir de S. montevideo S.H. 94 se présente, après hydrolyse alcaline ménagée, comme une molécule plutôt petite (P.M. 10.000). Il s'agit essentiellement d'un hétéropolymère constitué de deux hexosamines, la D glucosamine et l'acide D mannosaminuronique, ces derniers étant partiellement estérifiés par l'acide palmitique. L'acide mannosaminuronique semble jouer un rôle déterminant dans la molécule. Son estérification par le diazométhane empêche en effet la précipitation de cette dernière par un antisérum spécifique ; d'autre part les mutants dépourvus d'E.C.A. ne sont plus capables de synthétiser cet acide.

Les autres constituants précédemment mis en évidence dans l'E.C.A., tels que la protéine, les acides nucléiques ou les oses neutres, n'y sont présents qu'en faible quantité. Mais il n'est pas certain que toutes les molécules constitutives de l'E.C.A. aient été identifiées.

E. Propriétés biologiques.

a) Toxicité et pouvoir pyrogène.

L'E.C.A. extrait de S. typhi et purifié par JOHNS (256) s'est révélé 1000 fois moins pyrogène que le L.P.S. chez le lapin. D'autre part, il n'a fait preuve d'aucun effet toxique chez cet animal. L'absence de toxicité a été confirmée lors d'essais effectués sur la souris (276).

On peut reprocher à ces expériences d'avoir porté sur des préparations où l'E.C.A. n'était plus sous sa forme native. On peut se demander d'autre part si l'effet pyrogène observé n'est pas lié à la présence de traces d'endotoxine difficilement décelables.

b) Propriétés antigéniques.

Parmi les bactéries E.C.A. positives, seules celles où cet antigène est lié par covalence au squelette fondamental du L.P.S., de la même manière que les chaînes latérales O, induisent la formation d'anticorps spécifiques chez l'animal (336). Les vaccins inactivés par la chaleur perdent facilement leur pouvoir immunogène, tandis que les bactéries vivantes ou les bactéries tuées par le formol, le merthiolate ou le phénol provoquent une bonne réponse anti E.C.A., du moins chez le lapin (517). On observe en effet des différences considérables suivant les espèces animales recevant le vaccin ; la souris, d'une manière générale, répond très faiblement à l'injection d'E.C.A. (MAKELA (336)).

L'interprétation des résultats obtenus à l'aide de l'E.C.A. purifié se révèle très délicate. Si la combinaison covalente de l'E.C.A. et du L.P.S., qui constitue la forme de l'E.C.A. insoluble dans l'éthanol, est toujours immunogène pour le lapin, les autres formes de l'E.C.A. et en particulier celles où cet antigène est simplement associé au L.P.S., sont peu aptes à induire la formation d'anticorps, du moins lors d'une primovaccination (336). On a attribué ce phénomène au fait que le L.P.S. induisait chez l'animal une tolérance immunitaire vis à vis de l'E.C.A. ou encore à une dissimulation par le L.P.S. des déterminants antigéniques de l'E.C.A.

D'une manière générale, les formes non immunogènes de l'E.C.A. peuvent induire la production d'anticorps spécifiques à condition qu'on leur associe l'adjuvant de Freund incomplet (203) ou qu'on les injecte de manière répétée à quelques jours d'intervalle.

Tous les traitements physiques ou chimiques susceptibles de diminuer la taille des particules d'E.C.A. réduisent ou annulent son pouvoir immunogène (516).

c) Pouvoir protecteur.

GORZINSKY et Coll. (205, 206) ont vérifié si l'E.C.A. extrait de E. coli O 14 ou E. coli O III pouvait protéger la souris contre une dose d'épreuve de bactéries pathogènes vivantes (S. typhimurium). Pour cela, l'antigène a été injecté par voie intrapéritonéale d'une part à des souris C 57 Bl/Ha 6, connues comme étant bonnes productrices d'anticorps anti E.C.A., d'autre part à des souris Swiss-albinos, qui sont de mauvaises productrices d'anticorps anti E.C.A. Les résultats obtenus ont été pratiquement identiques dans les deux cas : l'immunisation par l'E.C.A. a eu pour effet de prolonger de manière significative la durée de survie des animaux éprouvés, sans augmenter le nombre de survivants, par rapport aux témoins non vaccinés.

L'immunisation passive de la souris à l'aide de sérum de lapin anti E.C.A. a donné des résultats à peu près similaires (204).

Si la possibilité d'une immunisation croisée par l'antigène O est à écarter dans ces expériences, on sait actuellement que la contamination de l'E.C.A. par un antigène Re ou par du lipide A peut être à l'origine des résultats positifs (326, 327, 328).

Il est intéressant de souligner qu'une protection totale contre une pyélonéphrite à Proteus mirabilis E.C.A. positif a pu être obtenue chez le lapin que ce soit par immunisation active ou par séro-protection. En revanche, il n'a pas été possible de protéger ainsi l'animal contre les bactéries pathogènes à E.C.A. négatif (154, 180, 332).

Bien que la chimie et l'immunologie de l'E.C.A. présentent encore de nombreuses incertitudes, il paraît actuellement difficile d'attribuer à cet antigène un rôle important dans l'immunisation contre les salmonelles, d'autant plus qu'un tel antigène devrait conférer une protection croisée vis à vis à vis d'espèces bactériennes différentes. Or, il est admis que la vaccination contre les salmonelles est spécifique de l'espèce bactérienne pénétrant dans l'organisme.

4) L'antigène H.

A. Mise en évidence et localisation.

La présence d'un antigène flagellaire spécifique a été pour la première fois découverte en 1903 par SMITH et REAGH (447) par la mise en évidence dans le sérum d'agglutinines antifiagelles. La même année, JOOS (260) a établi l'existence de deux antigènes distincts chez les salmonelles, l'un thermolabile à 60°C et donnant une agglutination floconneuse, l'autre thermostable et donnant une agglutination granuleuse avec les sérums immuns. C'est en 1917 que WEIL et FELIX (508) ont appelé H l'antigène flagellaire (correspondant à des colonies "Hauch", qui s'étaient) et O l'antigène somatique thermostable (correspondant à des colonies "Ohne Hauch", qui ne s'étaient pas). Ils précisent cette étude en 1920 (509) et décrivent l'antigène H comme thermolabile à 100°, détruit par l'alcool et l'acide chlorhydrique alors que l'antigène O résiste à tous ces agents.

B. Isolement et purification.

Le premier, WEIBULL (505) obtient une préparation pure de flagelles en 1948, par agitation de salmonelles en présence de billes de verre pour en détacher les flagelles, ceux-ci étant ensuite séparés des corps bactériens par centrifugation.

Les méthodes habituelles de purification font appel à des broyeurs ou des agitateurs (165, 273, 282, 462) pour détacher les flagelles qui sont ensuite séparés des autres organites bactériens par des centrifugations différentielles répétées (190, 282, 462, 505) parfois associés à la précipitation par le sulfate d'ammonium (282, 285, 506), l'alcool éthylique à basse température (273) ou enfin la chromatographie par échange d'ions (343). Les précautions à prendre pour éviter la destruction des flagelles au cours de l'isolement et de la purification ont été décrites par STOCKER (462).

C. Composition et structure chimiques.

Les flagelles ainsi purifiées sont constituées exclusivement de restes d'acides-amino (282, 507). La diffraction des rayons X permet de les classer dans le groupe des scléroprotéines (ASTBURY (25)).

Ils sont dissociables par les acides, les détergents, le phénol, les ultra sons, la chaleur ou l'urée (2, 505, 507).

Cette dissociation libère des sous unités monomériques appelées flagellines (ASTBURY et Coll. (26)) qui se révèlent homogènes (22) tant en chromatographie (165) qu'à l'électrophorèse (2).

Dans le cas des salmonelles, les molécules de flagelline ont un poids moléculaire de 40.000, quel que soit le procédé utilisé pour la dépolymérisation (9, 22, 275, 284, 329, 505).

L'étude de la structure des flagelles en microscopie électronique (145, 454) avait permis de conclure à une conformation hélicoïdale. KERRIDGE et Coll. (275), utilisant la technique de coloration négative au phosphotungstate sur des coupes minces de flagelles concluent que les monomères de flagelline ont un diamètre de 45 Å (ce qui est en accord avec le poids moléculaire) et s'associent par groupes de six ou cinq selon un arrangement en trois brins hélicoïdaux ou en cinq brins parallèles. LOWY et HANSON (320) pensent, quant à eux, que les flagelles sont constituées de huit rangées de molécules de flagelline associées dans une structure hélicoïdale telle que le nombre de molécules par tour de spire soit lui même égal à huit. Ce modèle correspond mieux aux résultats donnés par la diffraction des rayons X (25).

La dépolymérisation des flagelles est réversible ; les molécules peuvent se réassocier à pH neutre dans certaines limites de concentration saline (ADA (1), ASAKURA (22)). Toutefois elles perdent cette capacité quand la température est supérieure à 28°C (192). Le polymère obtenu a le même comportement en ultracentrifugation en gradient de densité que le flagelle d'origine (1).

Ayant étudié la composition en acides aminés de dix sortes de flagelles antigéniquement différents, isolés par la méthode de STOCKER et CAMPBELL (462), Mac DONOUGH (329) constate que :

- tous contiennent des acides aspartique et glutamique, de la thréonine et de l'alanine en grande quantité ; de la tyrosine, de la phénylalanine, de la proline et de la méthionine en petite quantité.
- quelques-uns contiennent de l'histidine (en particulier les flagelles possédant le facteur antigénique G n'en contiennent pas).
- la cystéine et le tryptophane sont absents de tous les flagelles.
- pour un groupe antigénique H donné, la composition en acides aminés est constante.
- l'étude de la composition de flagelles antigéniquement non décrites montre que la différence entre ceux-ci porte sur la substitution de onze à trente-huit résidus sur trois cent quatre-vingt que comporte la chaîne polypeptidique.

AMBLER et STOCKER (cités par Mac DONOUGH) avaient déjà montré que des flagelles antigéniquement différents n'ont pas la même composition en acides aminés.

D. Propriétés biologiques.

a) Toxicité.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de résultats concernant la toxicité des protéines flagellaires. Il est probable que celle-ci est très faible puisqu'il s'agit de constituants insolubles.

b) Rôle dans la virulence.

Pour ARKWIGHT (21) ou RAFFEL (405) l'antigène H ne joue aucun rôle dans la virulence du germe. TULLY et GAINES (477) montrent que la virulence de souches mobiles injectées par voie intracérébrale à la souris est identique ou inférieure à celle de mutants immobiles de la même souche.

c) Pouvoir antigénique.

L'infection par des germes flagellés donne lieu à la formation d'anticorps anti H qui agglutinent ces germes.

ADA et Coll. (1) ont étudié comparativement le pouvoir antigénique des flagelles, de la flagelline et des polymères de flagelline. Il en ressort que la spécificité antigénique de ces trois préparations est identique mais que leur pouvoir immunogène est différent, le taux des anticorps dosés chez le rat étant nettement plus élevé lorsque ceux-ci ont reçu les flagelles comme antigène.

La spécificité antigénique des flagelles est liée à leur composition en acides aminés, cette composition étant elle-même à l'origine de la conformation de la molécule de flagelline (3). Mais l'organisation des molécules de flagelline dans le flagelle pourrait également jouer un rôle (1, 261, 275).

Un caractère particulier propre à certaines souches de salmonelles mérite d'être souligné. Il s'agit de la double spécificité de l'antigène H. Comme l'a montré ANDREWS (14), ces souches, diphasiques, peuvent prendre alternativement deux formes antigéniques distinctes, l'une spécifique correspond à la phase 1, l'autre non spécifique correspondant à la phase 2. Chaque sérotype de la classification de KAUFFMANN-WHITE possède son propre type spécifique d'antigène en phase 1 et 2 si la souche est diphasique ; STOCKER (461) a montré que dans une telle souche les proportions respectives de bactéries en phase 1 et 2 restent à peu près constantes et sont fonction de la souche.

Le mécanisme de cette variation antigénique est encore mal connu. On sait seulement que ces spécificités H1 et H2 sont gouvernées par deux gènes largement séparés sur le chromosome bactérien, l'activité de ces derniers étant elle-même sous la dépendance de trois gènes régulateurs. Mais il n'est pas exclu que l'ensemble soit contrôlé par un épisode (IINO (242)).

d) Pouvoir protecteur.

Les opinions concernant le pouvoir protecteur de l'antigène H sont tout à fait contradictoires. Si ARKWIGHT (21) et RAFFEL (405) pensent que ce dernier ne joue aucun rôle dans la protection, EDSALL et Coll. (162), comparant le contenu antigénique de différents vaccins en parallèle avec leur efficacité sur le terrain concluent que l'antigène H contribue à l'efficacité de la vaccination. Ayant utilisé sur le terrain un vaccin préparé à l'aide d'un mutant immobile de S. typhi, WAHDAN et Coll. (496) constatent que celui-ci est inefficace et en déduisent que

l'antigène H est indispensable à la protection. BENENSON (42), de même que KHEIFETS et Coll. (278) observent d'autre part un certain parallélisme entre les taux d'anticorps anti-H et le degré de protection.

Ces arguments n'emportent pas notre conviction, car ils nous semblent fondés sur des critères discutables. En outre, les essais effectués sur l'animal n'ont pas donné de résultats favorables. Si CAREY et BARON (85) ont pu noter que les souris vaccinées à l'aide d'un antigène H purifié sont protégées contre une dose d'épreuve de S. typhi Ty 2 injectée par voie intrapéritonéale, il est peu probable que cette protection soit spécifique puisqu'on observe également après utilisation du même antigène chauffé, ayant donc perdu la majeure partie de son pouvoir immunogène. TULLY et Coll. (477, 478) vaccinent des souris et des chimpanzés à l'aide de souches mobiles ou immobiles de S. typhi et les éprouvent à l'aide des mêmes souches mobiles ; la protection obtenue étant comparable pour ces deux préparations, ils concluent que l'antigène H ne joue aucun rôle dans la protection.

Enfin nous avons vu que les vaccins chauffés ou traités à l'alcool, dans lesquels l'antigène H, thermolabile et dénaturé par l'alcool, a perdu une grande part de son pouvoir immunogène, conservent une valeur protectrice comparable à celle des autres préparations vaccinales dans lesquelles ce constituant est intact.

5) Les "vaccins ribosomiques".

A. Efficacité des ribosomes.

La découverte en 1960, par KANAI et YOUNANS (272), du caractère immunogène des ribosomes bactériens a conduit de nombreux laboratoires à s'intéresser, depuis plus d'une décennie, aux "vaccins ribosomiques".

Les résultats obtenus par YOUNANS (530), montraient que les ribosomes des mycobactéries protègent la souris contre une dose d'épreuve de bactéries vivantes homologues, d'une manière pratiquement aussi efficace que les vaccins vivants, à condition toutefois de les injecter en association avec l'adjuvant incomplet de Freund. L'efficacité des ribosomes et de certains constituants ribosomiques pour la protection contre les bactéries pathogènes correspondantes devait ensuite être confirmée aussi bien dans le cas de bactéries à Gram-négatif comme les salmonelles (163, 235, 239, 258, 259, 339, 364, 443, 444, 484, 485, 488, 489), les Neisseria (467), les Pseudomonas (445, 446), les vibrions (216, 253), les Brucella (121) que dans le cas des bactéries à Gram-positif comme les staphylocoques (521), les streptocopes (426), les pneumocoques (468). JOHNSON (258) devait cependant enregistrer des résultats négatifs avec les ribosomes de Yersinia pestis.

En ce qui concerne les salmonelles, les études effectuées sur la souris ont été réalisées à l'aide de préparations ribosomales provenant principalement de S. typhimurium (VENNEMAN (484, 485, 488, 489), JOHNSON (258, 259), HOUCHEMS (239), EISENSTEIN (163), HOOPS (235), SMITH (443, 444), MOLINARI (364)) mais aussi de S. enteritidis (EISENSTEIN (163), MARGOLIS (339)), ces deux espèces étant naturellement pathogènes pour les rongeurs. Une protection de la souris contre une dose d'épreuve de diverses souches de S. typhi a été obtenue également par MOLINARI (365, 366) à l'aide de ribosomes de S. typhi Ty 2.

Deux conclusions intéressantes peuvent être retenues de l'ensemble des essais de vaccination de la souris à l'aide de fractions ribosomiques de salmonelles : l'efficacité de la protection est comparable à celle que confère l'immunisation par les germes vivants, et l'addition d'un adjuvant au vaccin n'est pas nécessaire.

B. Nature de l'antigène vaccinant des préparations ribosomales.

Si, à l'exception de MEDINA (348), tous les auteurs s'accordent à reconnaître les qualités immunogènes des vaccins ribosomiques provenant des salmonelles, les essais d'identification de la fraction active n'ont donné, jusqu'à présent, que des résultats contradictoires.

La localisation cellulaire et les méthodes de purification des ribosomes sont suffisamment connues à l'heure actuelle pour qu'il ne soit pas nécessaire de les décrire ici. En revanche, nous rappellerons brièvement la structure de ces organites, dans la mesure où celle-ci explique en partie la difficulté de l'identification du constituant immunaugène.

Dans la cellule procaryote, les ribosomes contiennent de 60 à 65 % d'acides ribonucléiques ribosomiques (rRNA) et environ 30 à 40 % de protéines. Chaque ribosome, dont le coefficient de sédimentation est égal à 70 S, est lui même formé de deux sous-unités inégales. La plus importante (50 S) contient deux molécules d'acides ribonucléiques différents (23 S et 5 S) et trente chaînes polypeptidiques distinctes. La plus petite (30 S) est formée d'une molécule d'acide ribonucléique (16 S) et de vingt chaînes polypeptidiques distinctes. La structure des acides nucléiques et des protéines ribosomiques a été largement étudiée dans le cas de E. coli. Notons que jusqu'à présent on n'a jamais mis en évidence de glucides dans ces protéines.

Il n'est pas inutile de rappeler d'autre part que les acides ribonucléiques ribosomiques sont susceptibles de s'associer à des molécules aussi diverses que les acides ribonucléiques messagers, les acides ribonucléiques de transfert porteurs de leur amino acide spécifique ou de la chaîne polypeptidique en voie de formation, les divers facteurs protéiniques d'initiation, d'élongation ou de terminaison de la chaîne polypeptidique. Deux autres particularités méritent d'être soulignées, à savoir la très grande affinité des acides nucléiques pour le lipopolysaccharide (384) et la tendance de certains ribosomes à se fixer sur les membranes cellulaires (481).

Pour JOHNSON (258, 259), le constituant immunogène du ribosome ne peut être qu'une protéine. En effet, les vaccins ribosomiques qui vaccinent efficacement la souris perdent cette propriété après action de la trypsine ou de la pronase, tandis qu'ils ne sont pas moins actifs après un traitement par la ribonucléase. Cependant, VENNEMAN et BERRY (53, 486, 487, 488, 489) pensent que le support du pouvoir protecteur serait plutôt un acide ribonucléique, peu sensible à la dégradation par la ribonucléase du fait de sa structure quaternaire. Ces auteurs n'écartent cependant pas l'hypothèse de l'intervention décisive d'un contaminant, vraisemblablement un polysaccharide de poids moléculaire élevé, par lequel l'acide nucléique servirait d'adjuvant.

D'après SMITH et BIGLEY (339, 443, 444), la fraction active serait un complexe RNA - protéine, tandis que MEDINA (348) attribue le pouvoir protecteur à un acide ribonucléique "de type Venneman". HOUCHEMS (239) étudie diverses fractions subcellulaires de S. typhimurium par électrophorèse en gradient discontinu de polyacrilamide, suivie d'une coloration différentielle des glucides et des lipides. Il conclue que l'antigène protecteur est une glycoprotéine ou un mucopolysaccharide de haut poids moléculaire.

Plus récemment, EISENSTEIN (163), utilisant différents "vaccins ribosomiques" provenant de mutants de salmonelles ayant des lipopolysaccharides incomplets, constate que les antigènes O contaminent à la fois les

acides ribonucléiques et les protéines extraits des ribosomes. Il en déduit que ces antigènes sont responsables au moins partiellement du pouvoir protecteur spécifique observé.

Les derniers résultats publiés sur ce problème sont ceux de HOOPS et Coll. (235). Il en ressort que le constituant immunogène peut être extrait des fractions actives par lavage à l'aide d'une solution concentrée de chlorure d'ammonium et que ces fractions actives sont effectivement contaminées par l'antigène O. Les auteurs ne considèrent cependant pas celui-ci comme étant le support du pouvoir protecteur et concluent que la nature chimique du déterminant antigénique reste encore à définir.

C. Nature de l'immunité développée.

Dans une thèse récente, ROBERT (416) a résumé les principales expériences de transfert d'immunité chez la souris qui ont permis de préciser l'origine humorale ou cellulaire de l'immunité conférée par les fractions ribosomiques.

Selon VENNEMAN et BERRY (487, 488), les réponses obtenues sont différentes suivant que l'on vaccine les souris à l'aide de la fraction ribosomique ou du rRNA purifié de S. typhimurium. L'immunisation par la souche avirulente vivante ou par la fraction ribosomique permet d'obtenir des transferts efficaces d'immunité, que ce soit à l'aide du sérum ou de cellules péritonéales. Les germes inactivés par la chaleur n'induisent, en revanche, qu'une immunité humorale. D'après HSU (241), les anticorps synthétisés seraient cytophiles et favoriseraient la lyse des bactéries par les macrophages.

Notons que l'analogie entre l'immunité cellulaire induite par les germes vivants, les ribosomes entiers ou l'acide ribonucléique ribosomique a été soulignée également par YOUNG (531) dans le cas des mycobactéries.

D'après SAITO (423) et BELL (40), ces transferts d'immunité cellulaire, qui ne nécessitent qu'un très petit nombre de cellules, se feraient par l'intermédiaire des ribosomes des lymphocytes ou des monocytes immuns.

Divers auteurs ont cherché à préciser les limites de la spécificité des "vaccins ribosomiques". Pour nous limiter aux salmonelles, nous noterons que NEUHAUSER (374) constate que les souris vaccinées à l'aide de ribosomes d'Histoplasma capsulatum n'étaient pas protégées contre une dose d'épreuve de S. enteritidis, tandis que YOUNG (530 bis) relève de son côté que les ribosomes de S. typhimurium ne confèrent à cet animal aucune immunité vis à vis de Mycobacterium tuberculosis. A l'exception de THOMPSON (469) et SWENDSEN (463) qui ont obtenu une réponse non spécifique de type en utilisant des ribosomes de pneumocoque à dose élevée, tous les auteurs concluent à la spécificité de l'immunité induite par les vaccins ribosomiques. ROBERT (416) a cependant observé chez la souris et le cobaye une protection significative vis à vis de Mixovirus influenzae A-PR 8 et une stimulation des macrophages alvéolaires après administration, par voie aérosol, d'un mélange immunostimulant provenant de Klebsiella pneumoniae, l'activité immunisante étant principalement liée à la fraction ribosomale du mélange.

6) Les autres fractions antigéniques.

En dehors des principaux antigènes que nous venons d'étudier, il existe d'autres constituants des salmonelles dont on a vérifié le pouvoir immunogène. Il s'agit malheureusement de substances dont la localisation cellulaire et la structure chimique sont pour l'instant mal définies. Il est d'autre part difficile, en ce qui les concerne, d'exclure toute possibilité de contamination par les antigènes précédemment décrits et en particulier par l'antigène O, dont les propriétés biologiques peuvent se manifester même si ce dernier n'est présent qu'à l'état de traces.

Parmi les constituants immunogènes insuffisamment caractérisés, nous citerons l'antigène de surface labile extrait à partir d'une souche virulente de S. typhimurium par AUZINS et ROWLEY en 1963 (27). Cet antigène s'est révélé capable d'induire une augmentation de la vitesse de phagocytose des macrophages péritonéaux de la souris. Par la suite, JENKINS et ROWLEY (255) ont isolé une préparation antigénique brute à partir de trois souches de salmonelles, en soumettant les bactéries à une extraction par le dodécyl sulfate de sodium. Cet antigène thermolabile, après purification par précipitation par l'éthanol, contenait 40 % de protéines et paraissait être associé à la fraction polysaccharidique de l'antigène O. Appliquant la même méthode d'extraction aux parois ectoplasmiques préalablement isolées de S. enteritidis, COLLINS et MILNE (II2, II3) constatent que la préparation obtenue est incapable d'inhiber la multiplication de la bactérie pathogène correspondante in vivo, chez la souris.

L'utilisation d'une solution alcaline à PH II a cependant permis à KAWAKAMI (271) d'extraire de cette bactérie un antigène vaccinant que l'auteur a ensuite purifié par précipitation à l'aide de sulfate d'ammonium et chromatographie sur DEAE-Sephadex. Le produit obtenu est une toxine, thermo-labile, appelée "toxine L", paraissant homogène tant en ultracentrifugation qu'en chromatographie ou analyse antigénique. Il s'agit d'une phospholipoprotéine dont le pouvoir protecteur se révèle supérieur à celui de l'endotoxine, mais inférieur à celui du vaccin vivant correspondant.

Nous noterons aussi qu'une substance protéique de haut poids moléculaire, baptisée "Protodyne", a été extraite du protoplasme de diverses bactéries à Gram-négatif, par BERGER (46, 47). Celle-ci s'est montrée capable d'induire chez l'animal une immunité non spécifique passagère.

BARBER et EYLAN, de leur côté (32, 33, 34, 35) ont constaté que des antigènes protéiques provenant de diverses salmonelles pouvaient conférer à la souris une immunité non spécifique.

Nous rattacherons enfin à la catégorie des constituants insuffisamment caractérisés l'antigène protecteur que CREACH, IVANOFF et FONTANGES (I29, 244) ont isolé du surnageant de culture de S. typhimurium. Mais nous parlerons plus loin de cet antigène qui a constitué le point de départ de nos travaux personnels.

IV CONCLUSION :

Il ressort de cet examen approfondi des travaux consacrés aux antigènes des salmonelles, que ni les antigènes O, H et Vi, ni l'antigène commun des entérobactéries, ne doivent être considérées comme étant les supports du pouvoir immunogène de ces bactéries. Les études récentes concernant les "vaccins ribosomiques" et certains antigènes solubles montrent cependant qu'il est possible d'extraire à partir des salmonelles un constituant protecteur, dont la nature exacte, la localisation cellulaire et la structure chimique demeurent inconnus pour l'instant.

TABEAU V

PREPARATIONS ANTIGENIQUES - VOIES PARENTERALE ET ORALE

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Préparation antigénique totale	Broyat de <u>S. typhi</u> - voie parentérale			Cobaye	HAHN 1897 (218)
Préparation antigénique totale	Centrifugation - broyage - filtration sous pression de <u>S. typhi</u> - voie paren- térale.	Mortalité Bactériolysines	<u>S. typhi</u>	Cobaye Singe	Mac FADYEN 1901-1903 (330, 331)
Préparation antigénique totale	Autolyse de <u>S. typhi</u> - voie parentérale	Agglutinines		Homme	SHIGA 1904 (434)
Préparation antigénique totale	Autolyse - filtration de <u>S. typhi</u> - voie paren- térale	Agglutinines Bactériolysines		Lapin	BRIEGER 1903 (80)
Indéterminé	Filtrat de culture de <u>S. typhi</u> - voie orale	Agglutinines		Lapin	TCHITCHKINE 1904 (464)
Préparation antigénique totale	Déssiccation - Broyage de <u>S. typhi</u> - voie parentérale	Agglutinines Bactériolysines		Cobaye	FRIEDBERGER 1905 (181)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
Préparation antigénique totale	Autolysat de <u>S. typhi</u> traité à l'éther ou à l'ammoniaque, voie parentérale.	Mortalité	<u>S. typhi</u> intra péri- tonéale	Cobaye sensi- bilisé.	VINCENT 1909_1910 (491, 492, 493)
Préparation antigénique totale	Autolysat de <u>S. typhi</u> , <u>S. paratyphi A</u> ou <u>B</u> traité à l'éther, voie parentérale.	Mortalité Morbidité	Germes cor- respondants	Homme (région d'endémie)	KABESHIMA 1911 (265)
Préparation antigénique totale	Autolysat de <u>S. typhi</u> , <u>S. paratyphi A</u> ou <u>B</u> traité à l'éther, voie parentérale.	Morbidité		Homme (ré- gion d'en- démie).	DI CAVALLERLEONE 1912 (148)
Préparation antigénique totale	Broyage par ultrasons de <u>S. typhi</u> .	Agglutinines		Rat	BOSCO 1948 (70)
Vi	Purifiée Voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi</u> Ty2 et 58 intra péritonéale - <u>S. abortus</u> equi sous cutanée - LPS voie parentérale	Souris	LANDY 1952 (297)
O	Purifié - Voie sous cutanée	Mortalité		Hamster	TOBA 1954 (47)
Vi et O	Purifiés - Voie intra péritonéale	Mortalité	<u>S. typhi</u> Ty2 intra périto- néale	Souris	DE BARBIERI 1956 (142)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Vi	Purifié. Voie intra péritonéale	Compte des bactéries d'épreuve dans le péritoine	<u>S. typhi Ty2</u> intra péritonéale	Souris	LANDY 1957 (302)
H	Purifié - Voie parentérale	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> intra péritonéale	Souris	CAREY 1958 (85)
O	Purifié - Voie parentérale	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> per os	Souris	FICHERA 1958 (175)
Vi	Purifié - Voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> intra péritonéale	Souris	WHITESIDE 1959 (518)
Vi	Purifié - Voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi</u> intra péritonéale	Souris	JARVIS 1960 (252)
Vi	<u>S. typhi</u> 5501, Vi négative, vivante - voie sous cutanée.	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> intra péritonéale	Souris	STANDFAST 1960 (453)
Vi	Purifié - Voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> ou 58 intra péritonéale	Souris	LANDY 1961 (304)
H	Mutants immobiles de <u>S. typhi</u> (Ty 2 W, O 901) tués acétone ou vivants - voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> per os	Chimpanzé	TULLY 1961 (477)
O	LPS phosphorylé purifié - voie sous cutanée	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> et 2593 per os	Chimpanzé	GAINES 1961 (187)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Vi	Purifié - Voie sous cutanée	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> <u>et 2593 per</u> <u>os</u>	Chimpanzé	GAINES 1961 (187)
H	Mutants immobiles (Ty 2 W, O. 901) et mobiles de <u>S.</u> <u>typhi</u> (Ty 2 V, Mrs SR, H. 901) tués acétone - voie intrapéritonéale.	Mortalité	- <u>S. typhi</u> <u>Ty 2 V ou</u> <u>Ty 2 W -</u> voie intra péritonéale	Souris	TULLY 1963 (478)
Vi	<u>E. coli</u> Vi positive ou <u>S. typhi Ty 2</u> vivantes, <u>per os</u> à doses sublé- tales.	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>Ty 2 per os</u>	Souris	PERSHIN 1963 (390)
Antigène de surface la- bile	Purifié à partir de <u>S.</u> <u>typhimurium -</u> Voie parentérale	Pouvoir opsonisant	<u>S. typhimu-</u> <u>rium.</u>	Souris	AUZINS et ROWLEY 1963 (27)
Vi	Extrait salin de tissus de souris ayant reçu une injection de Vi purifié- voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhi Ty2</u> <u>intrapéri-</u> <u>tonéale</u>	Souris	GAINES 1965 (188)
O	LPS lyophilisé - voie intraveineuse	Mortalité	<u>S. typhi</u> <u>Ty 2 per os</u>	Chimpanzé	TULLY 1965 (480)
Vi	Purifié - Voie sous cutanée	Morbidity		Enfants région d'endémie	PUTRIN 1965 (396)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUEE	AUTEURS
Antigène de thermolabile Antigène O	Purifié à partir de <u>S. enteritidis</u> - voie parentérale	Multiplication de la bactérie pathogène	<u>S. enteritidis</u> voie intraveineuse	Souris	COLLINS et MILNE 1966 (113)
Ribosome Antigène O	Purifiés à partir de <u>S. typhimurium</u> - voie sous cutanée et intrapéritonéale.	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> 208.050 voie intra-veineuse ou intrapéritonéale.	Souris	VENNEMAN 1967 (484)
Sphéroplaste Antigène de paroi Antigène O Toxine thermolabile.	Purifiés à partir de mutants de salmonelles Voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. enteritidis</u> 116.54 et <u>S. typhimurium</u> Stm H-voie intra-veineuse	Souris	KAWAKAMI 1969 (271)
Protodyne Antigène O	Purifiés à partir de <u>E. coli</u> , <u>Serratia marcescens</u> ..., voie intrapéritonéale.	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> 3 S, <u>S. typhi</u> Ty2, <u>S. enteritidis</u> . Voie intrapéritonéale	Souris	BERGER 1969 (46) 1971 (47)
Ribosome-Fraction ribosomique	Purifiés à partir de <u>S. typhimurium</u> - voie sous cutanée.	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> SR II, voie intrapéritonéale	Souris	VENNEMAN 1970 (485)
Vi	Purifié - voie sous cutanée	Morbidité	<u>S. typhi</u> quail <u>s</u> per os	Volontaires	HORNICK 1970 (236)

ANTIGÈNE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Antigène commun des entérobactériens	Sérum de lapin anti E.C.A purifié extrait de E.coli O.III - voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	GORZYNSKI 1971 (204)
Antigène total, O	Extraits de <u>S. typhimurium</u> - voie orale	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	RAETIG 1971 (402)
Ribosome	Purifié à partir de <u>S. typhimurium</u> - voie sous cutanée	Séroprotection	<u>S. typhimurium</u> SR II, voie intra péritonéale	Souris	VENNEMAN 1971 (487)
Ribosome - Fraction ribosomique	Purifié à partir de <u>S. typhimurium</u> , <u>Y. pestis</u> - voie sous cutanée	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> SR II ou <u>Y. pestis</u> voie intra péritonéale	Souris	JOHNSON 1972 (258)
R N A ribosomique	Purifié à partir de <u>S. typhimurium</u> - vois sous cutanée	Mortalité	<u>S. typhimurium</u> SR II, voie intra péritonéale	Souris	VENNEMAN 1972 (489)
Antigène commun des entérobactériens	E.C.A purifié extrait de <u>E. coli</u> O.III - voie intrapéritonéale	Mortalité	<u>S. typhimurium</u>	Souris	GORZYNSKI 1972 (205) 1975 (206)
Vi	-Purifié - voie intrapéritonéale ou sous cutanée -Bactéries Vi positives traitées ou non avec une enzyme dégradant Vi, voie intrapéritonéale ou sous cutanée.	Mortalité	<u>S. typhi</u> Ty2 - intrapéritonéale	Souris	WONG 1972 (525)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Préparation antigénique totale	Désintégration par ultra- sons ou broyeur de Mickle de <u>S. typhimurium</u> 1566 traitées à l'acétone et déséchées.	Mortalité	<u>S. typhimu- rium</u> 1566 per os ou intra- péritonéale	Souris	CRONLY-DILLON 1972 (133)
Vi et O	Purifiés à partir de <u>S. typhi</u> ou <u>S. paratyphi</u> A et B.	Mortalité	<u>S. typhimu- rium</u>	Lapin Souris	HATUNCHEVA 1974 (222)
Antigène du surnageant de culture	Préparé à partir d'une culture de <u>S. typhimurium</u> M 206 - Voie orale	Mortalité	<u>S. typhimu- rium</u> C5 S voie orale	Souris	IVANOFF - CREACH - FONTANES 1974 (244, 246) 1976 (129, 249)
H	Mutant immobile tué	Morbidité		Homme (ré- gion d'en- démie.)	WAHDAN 1975 (496)
Protéines détoxifiées	Extraites de <u>S. typhimu- rium</u> , <u>S. para</u> B et C	Mortalité	Souches cor- respondantes	Souris	BARBER - EYLAN 1974 1975 (32, 33, 34, 35)
Ribosomes (ARN et pro- téines)	Purifiés à partir des mutants G011 et G024 de <u>S. enteritidis</u> - voie intrapéritonéale	Compte des germes d'épreuve	<u>S. typhimu- rium</u> - voie intrapérito- néale.	Souris	EISENSTEIN 1975 (163)
Ribosomes	Purifiés à partir de <u>S. typhimurium</u> - voie sous cutanée.	Mortalité	<u>S. typhimu- rium</u> SR 11, voie intra- péritonéale	Souris	HOOPS 1976 (235)

ANTIGENE CONCERNE	TYPE DE PREPARATION VOIE D'ADMINISTRATION	TEST D'EFFICACITE	BACTERIE D'EPREUVE	ESPECE EPROUVEE	AUTEURS
Vi	Purifié - Voie orale ou intrapéri- tonéale	Mortalité	Hybride S. <u>typhi</u> - <u>S.</u> <u>typhimurium</u> intra péri- tonéale	Souris	DIENA 1977 (151)
Antigène extrait par l'eau.	Purifié à partir de <u>S. typhimurium</u> - voie sous cutanée.	Mortalité	<u>S. typhimu-</u> <u>rium</u> - voie orale	Souris	SEVERTSOVA 1977 (432)

Seconde Partie

TRAVAUX PERSONNELS

INTRODUCTION

Ayant déjà démontré qu'une souche avirulente de Salmonella typhimurium, la souche M. 206, administrée par voie orale, protégeait plus efficacement la souris contre une dose létale de bactéries pathogènes homologues, que la souche virulente correspondante inactivée par la chaleur (177, 245, 247), IVANOFF, CREACH, FONTANGES et Coll. entreprenaient l'isolement et la purification du constituant immunogène de cette salmonelle. Tenant compte des résultats favorables que certains d'entré eux avaient précédemment obtenus dans le cas de Yersinia pestis EV (128, 178), ils choisirent d'essayer d'isoler l'antigène protecteur à partir du surnageant de culture de la bactérie, plutôt que de la bactérie elle-même.

Cette étude devait leur permettre d'obtenir un extrait antigenique capable de protéger efficacement la souris par voie orale (244, 246, 249). En même temps ils mettaient en évidence le caractère macromoléculaire et polymorphe des fractions actives (129, 244).

Etant donné que ces constituants pouvaient résulter d'une association de sous-unités élémentaires, nous avons cherché à séparer ces sous-unités, afin d'identifier celle qui représente le support du pouvoir protecteur, et de procéder, dans un second temps, à la détermination de sa structure.

Notre premier chapitre sera consacré à la description des techniques employées, tandis que nous rapporterons dans le second chapitre les résultats que nous avons obtenus. Nous terminerons par une discussion générale de ces résultats, en tenant compte des données bibliographiques exposées dans la première partie.

CHAPITRE I

MATRIEL ET METHODES

I ANIMAUX :

1) Souris.

Les contrôles du pouvoir immunogène des différentes fractions ont été effectués sur des souris Balb/C des deux sexes, âgées d'environ deux mois et pesant entre 18 et 20 g. Ces animaux provenaient d'une colonie close entretenue au laboratoire. Ils étaient nourris de croquettes UAR A03 et placés pendant l'épreuve dans des cages recouvertes d'"Isocap" (B.D-Mérieux) pour éviter la dissémination des bactéries pathogènes, l'expérience se déroulant elle même dans un local stérile.

2) Lapins.

Pour la préparation des immunosérums, nous avons utilisé des lapins mâles ou femelles de race commune pesant entre 2 et 3 kg., placés dans des cages individuelles et maintenus à un régime complet et uniforme pendant la durée de l'expérience.

II SOUCHES BACTERIENNES :

1) Souche pathogène.

Pour éprouver les souris vaccinées, nous avons utilisé la souche C-5 S de Salmonella typhimurium, provenant de l'Institut Pasteur de Paris. La virulence de cette souche hautement pathogène a été entretenue par passage sur les souris, comportant l'injection intrapéritonéale d'une dose létale de la bactérie et le prélèvement stérile de la rate de l'animal dès la mort de ce dernier, des fragments de cette rate étant ensuite lyophilisés et conservés en ampoules scellées sous vide.

Les cultures de bactéries ont été réalisées en introduisant stérilement un fragment de rate lyophilisé dans un ballon contenant 130 ml de bouillon "Eugonbroth" (B.D Mérieux) qui a été ensuite maintenu à 37°C pendant 24 heures.

Une numération des germes vivants et un contrôle de l'homogénéité de la culture ont alors été effectués sur boîtes de Pétri. Un comptage parallèle des bactéries totales a été pratiqué à l'aide d'un compteur de particules (Coulter counter modèle F, Coultronic). Habituellement la concentration bactérienne obtenue était de $2,4 \times 10^8$ germes/ml.

Les caractères biochimiques de la souche ont été régulièrement contrôlés sur plaque API - 50.

2) Souche avirulente.

Comme souche avirulente de S. typhimurium, nous avons utilisé la souche L-206 provenant de l'Institut Pasteur de Paris. Il s'agit d'un mutant dont la teneur en antigène O est faible, bien que cet antigène soit complet. Cette bactérie a été décrite pour la première fois par ARCHER et ROWLEY en 1969 (18).

Les cultures en tubes à essais ont été effectuées à 37°C sur bouillon "Eugonbroth".

III PREPARATION DE L'ANTIGENE BRUT :

C'est la souche R-206, non pathogène, qui nous a servi à la préparation de l'antigène. Des essais préliminaires ayant montré l'importance de l'inoculum pour obtenir un rendement convenable en bactéries, nous avons d'abord ensemencé 10 ml de milieu "Eugonbroth", qui, après 24 heures d'incubation à 38°C ont été transférés dans un ballon contenant 250 ml du même milieu. Cette seconde culture a servi ensuite à ensemencer 1250 ml de bouillon, qui, après incubation dans les mêmes conditions, ont été transférés dans un petit fermenteur CHEMAP contenant 13,5 l du même milieu.

Après 24 heures de culture, le contenu de ce petit fermenteur a servi à ensemencer un grand fermenteur CHEMAP contenant 135 l d'une solution aqueuse de 1,5 % d'hydrolysate de caséine, 0,5 % de peptone pancréatique, 0,4 % de NaCl, 0,1 % de citrate de sodium, 0,02 % de cystine, 0,02 % de sulfite de sodium et 0,5 % de glucose, ajustée au départ à pH 7,7. La température de la culture était de 38°C, l'oxygénation de 15 l. d'air/mn et l'agitation de 1200 t/mn.

Au bout de 28 heures, le contenu du fermenteur a été centrifugé à 16.000 t/mn sur centrifugeuse SHARPLES 16 RR, ce qui a permis de recueillir 430 g. de culot bactérien humide et un surnageant de culture qui a servi à la préparation du vaccin.

Le surnageant a été filtré sur filtre presse SEITZ équipé de cinq plaques clarifiantes KoTh 7 et de cinq plaques filtrantes EKS, puis sur ultrafiltre AMICON TC 5D équipé de membranes XM - 300. On a séparé ainsi les constituants de poids moléculaire supérieur à 300.000 des constituants de poids moléculaire inférieur à 300.000. Ces deux fractions après dialyse contre de l'eau distillée ont été lyophilisées.

Les travaux d'IVANOFF et Coll. (129, 244, 246, 249) ayant montré que l'antigène protecteur étant concentré en grande partie dans la fraction de PM supérieur à 300.000, nous avons utilisé celle-ci comme préparation antigénique brute de départ.

IV PURIFICATION DE L'ANTIGENE :

I) Chromatographie d'exclusion.

Pour le fractionnement de l'antigène brut, nous avons fait appel à la chromatographie d'exclusion sur gels hydratés mixtes de polyacrilamide et d'agarose, à savoir dans l'ordre :

- 1'Ultrogel Ac A 22, (produit LKB N° 5210-I00) dont le domaine de fractionnement va de 100.000 à 1.200.000 daltons pour les protéines globulaires.

- 1'Ultrogel Ac A 34 (produit LKB N° 5210-II0) dont le domaine de fractionnement va de 20.000 à 350.000 daltons pour les protéines globulaires.

a) Préparation des gels.

Des essais préliminaires nous ayant permis de constater que le profil d'exclusion était identique, que l'on opérât en tampon phosphate 0,1 M de pH 7,4 ou en eau distillée, pour des raisons de commodité, nous avons choisi la seconde méthode. Les gels livrés prêts à l'emploi ont donc

été repris dans de l'eau distillée et dégazés sous vide à la température du laboratoire pendant 24 heures.

b) Remplissage des colonnes.

Nous avons utilisé des colonnes Séphadex K 25/100 placées dans une enceinte réfrigérée à + 4°C. Dans chaque colonne, munie de son réservoir de remplissage R 25, on a introduit du tampon jusqu'au tiers de la hauteur. Après avoir chassé l'air de la tubulure de sortie et réglé la hauteur de cette dernière de manière à éviter toute surpression, on a rempli la colonne de gel jusqu'à ce que la hauteur en fin de sédimentation atteigne 90 cm environ, puis on a stabilisé le gel en y faisant passer 4 volumes de tampon à partir d'un vase de Mariotte dont la hauteur était réglée de manière à avoir une pression hydrostatique égale à 20cm d'eau.

c) Dépôt des échantillons.

Des échantillons correspondants à 500 mg de produit dissous dans 4ml d'eau ont été déposés sur la colonne à l'aide d'un cylindre applicateur que l'on a retiré lorsque le chargement a été terminé.

d) Elution.

L'élution a été effectuée par gravité, sous pression constante, réglée à l'aide d'un vase de Mariotte. Le débit était en moyenne de 8 ml/heure. Des fractions de 5 ml ont été recueillies sur collecteur GILSON Microcol. La sortie des protéines dans l'éluat a été contrôlée simultanément par mesure de l'absorption à 280 nm sur spectrophotomètre UVICORD II LKB ou sur UA-5 ISCO et par dosage colorimétrique sur Autoanalyzer TECHNICON.

2) Chromatographie par échange d'ions.

Les chromatographies par échange d'ions ont été effectuées sur colonnes d'hydroxylapatite (Bio-Gel HTP, Bio-Rad Laboratories) de 12 cm de haut et 1 cm de diamètre.

La prise d'essai était dissoute dans un tampon phosphate 5 mM de pH 6,5, de molarité croissante, le débit de la colonne était réglé à 10 ml/h à l'aide d'une pompe péristaltique Minipuls II (Gilson), l'éluat étant recueilli par fractions de 1,5 ml. La sortie des protéines était contrôlée par absorption à 280 nm et par dosage colorimétrique.

V ANALYSE ELECTROPHORETIQUE :

Pour séparer les différentes chaînes polypeptidiques contenues dans nos fractions et déterminer leur poids moléculaire approximatif, nous avons utilisé l'électrophorèse en gel de polyacrilamide - SDS en suivant le protocole décrit par MAIZEL (335).

I) Réactifs.

Solutions pour gel :

. Solution A (ajustée à pH 7,4)

Urée	300 g
EDTA	0,1 g
Na ₂ H PO ₄ , 12 H ₂ O	109,68 g

Na H ₂ PO ₄ , H ₂ O	9, 92 g
Persulfate de NH ₄	1 g
Dodecyl sulfate de Na	1 g
Eau q s p	500 ml

• Solution B

Acrylamide	7,5 g
Bis acrylamide	0,2 g
TEMED	10 µg
Eau q s p	50 ml

Les solutions A et B sont mélangées à volumes égaux juste avant l'emploi, ce qui donne comme concentration finale des gels : urée 5M, EDTA 0,01 %, tampon phosphate 0,189 M, persulfate de NH₄ 0,1 %, SDS 0,1 %, acrylamide 7,5 %, Bis 0,2 %, TEMED 0,01 %.

• Solution solubilisante

Urée	4,86 g
SDS	0,08 g
B mercaptoéthanol	12 µl
Eau q s p	10 ml

• Tampon de pH 7,4 1 M

Na ₂ HPO ₄ , 12 H ₂ O	290,16 g
Na H ₂ PO ₄ , H ₂ O, ...	26,22 g
SDS	1 g
Eau q s p	1 l

• Réactif de fixation des protéines

Solution aqueuse d'acide trichloracétique à 50 p. 100

• Réactif de coloration des protéines

Noir amide	1 g
Solution décolorante	1 l

• Solution décolorante

Acide acétique	600 ml
Méthanol	2700 ml
Eau	2700 ml

• Colorant témoin de migration

Solution aqueuse de pyronine à 10 mg/ml.

<u>Solutions étalons de protéines à 2mg/ml</u>	P M
Albumine bovine	68.000
Ovalbumine	43.000
α Chymotrypsinogène	25.700
Trypsine	23.300
Hémoglobine	15.500
Lysosyme	14.300
Ribonucléase	12.700

• Reactifs de fixation des glycoprotéines

Periodate de sodium	2,5 g
Eau	86 ml
Acide acétique	10 ml
Acide chlorhydrique	2,5 ml
Acide trichloracétique	1 g

• Solution de lavage

Acide acétique	10 ml
Acide trichloracétique	1 g
Eau	90 ml

• Réactif de coloration : Réactif de SCHIFF.

Dissoudre 1,5 g de fuchsine dans 500 ml d'eau distillée bouillante. Filtrer à 55°C. Ajouter 25 ml de HCl et 3,75 g de métabisulfite de sodium. Agiter. Compléter à 500 ml avec de l'eau distillée. Laisser en chambre froide pendant 16 heures. Ajouter 1,25 g de charbon animal. Laisser en contact 40 à 60 secondes. Filtrer et conserver à 4°C.

• Réactif de décoloration

Bisulfite de sodium	1 g
Acide chlorhydrique	20 ml
Eau	980 ml

2) Appareillage.

Les gels ont été coulés dans des tubes cylindriques en verre ou en quartz de 12 cm de long et 6 mm de diamètre intérieur placés sur un support en plexiglas à pieds réglables.

Pour la photopolymérisation nous avons utilisé une enceinte lumineuse BUCHLER équipée de 10 tubes fluorescents de 75 watts.

Les électrophorèses ont été effectuées dans une cuve cylindrique à deux compartiments étanches refroidis par une circulation d'eau du robinet (Polyanalyst BUCHLER). La capacité de cet appareil est de 12 tubes.

L'alimentation électrique de la cuve était assurée par une source de courant continu fournissant soit un voltage soit un courant constant, avec une puissance de sortie maximale de 200 watts. (Appareil BUCHLER modèle 3 - II56).

La mesure des distances de migration des protéines a été effectuée sur un analyseur de gel (Gel - Scanner ISCO modèle 658) relié à un absorptionmètre enregistreur (Absorbance monitor ISCO - UA5).

3) Protocole expérimental.

a) Préparation des gels.

Avant utilisation, les tubes pour gels sont trempés dans un mélange sulfochromique pendant une nuit, puis rincés à l'eau distillée et séchés. Après avoir obturé le bas des tubes à l'aide d'un bouchon de caoutchouc, on fixe ces derniers sur le support en plexiglas en vérifiant que leur position est parfaitement verticale.

A l'aide d'une pipette on introduit alors dans chaque tube le mélange à parties égales des solutions A et B pour gels, en s'arrêtant à 2 cm du bord supérieur. Il est important que tous les gels d'une même série aient la même longueur. Il faut également veiller à éliminer les bulles formées dans les tubes en tapant légèrement sur ces derniers. On recouvre alors le sommet de la colonne d'eau distillée de façon à protéger ce dernier de l'air et à obtenir une surface supérieure bien plane.

La photo polymérisation est effectuée en plaçant les tubes pendant 30 minutes dans l'enceinte éclairée. Les gels peuvent alors être utilisés immédiatement ou conservés pendant quelques jours dans un réfrigérateur.

b) Préparation des échantillons de protéines

Il est important que le poids moléculaire des différentes chaînes peptidiques contenues dans les protéines témoins soient connues avec précision. Il faut veiller également à éviter tout phénomène de protéolyse lié à des impuretés ou inhérent aux protéines utilisées.

A 1 ml de solution de protéine témoin on ajoute 1 ml de solution solubilisante et on maintient le mélange dans un bain-marie à 100°C pendant 2 minutes.

Le mercapto éthanol rompt les ponts disulfure, le SDS détruit les liaisons hydrogène, tandis que le traitement à 100°C élimine les artefacts protéolytiques.

A 2 ml de cette solution on ajoute 10 gouttes de solution de pyronine.

c) Dépôt des échantillons.

Il faut déposer entre 1 et 20 µg de protéines pour que les chaînes polypeptidiques puissent être visualisées sur le gel. Des quantités de protéines plus importantes ou un volume supérieur à 150 µl entraînent un étalement des zones.

Le dépôt (30 µl d'une solution contenant 30 µg de protéines) est effectué sur le sommet du gel à l'aide d'une micropipette calibrée.

On place alors les tubes dans l'appareil à électrophorèse et on remplit la cuve inférieure du tampon en ayant soin d'éliminer les bulles d'air emprisonnées au bas des tubes. On recouvre soigneusement les échantillons de tampon jusqu'au sommet des tubes puis on remplit la cuve supérieure du même tampon.

On établit alors le circuit de réfrigération pour éviter l'échauffement par effet Joule.

d) Electrophorèse.

On relie les électrodes au générateur, avec l'anode en bas, puis on règle le courant à 8 m A par gel. L'électrophorèse est arrêtée avant que le colorant témoin de migration ait atteint l'extrémité inférieure du gel, soit au bout de 7 heures environ.

Avec un courant plus faible l'électrophorèse peut être effectuée au cours de la nuit.

Il faut noter que les gels se déforment, si le courant est supérieur à 10 m A.

e) Extraction des gels et fixation des protéines.

A l'aide d'une seringue munie d'une longue aiguille, on fait jaillir de l'eau entre le gel et le tube. Avec un peu d'habitude on peut alors sortir le gel assez facilement.

On commence par marquer la position du colorant témoin à l'aide d'un petit fil de cuivre de 5 à 6 mm de long. Il est plus facile de repérer le front de migration de la pyronine en se plaçant sous une lampe UV à 366 nm.

Les gels sont alors maintenus pendant 16 heures dans le réactif de fixation des protéines.

f) Coloration et décoloration

Les gels sont placés dans des tubes à essais remplis de solution colorante pendant 5 heures environ. On peut activer la coloration en plaçant ces tubes dans un bain-marie à 80°C.

Pour enlever l'excès de colorant on plonge les gels pendant 2 à 3 jours dans plusieurs bains de solution décolorante que l'on chauffe au bain-marie.

g) Conservation.

Les bandes colorées restent visibles presque indéfiniment si l'on conserve les gels dans des tubes à essais bouchés contenant une solution à 7,5 % d'acide acétique.

h) Calcul des mobilités et des poids moléculaires.

Après décoloration on mesure la distance comprise entre le sommet du gel et le fil de cuivre indiquant l'emplacement de la pyronine puis celle comprise entre le sommet et les différentes bandes colorées. Le rapport de ces deux longueurs donne directement la mobilité relative de chaque bande.

Nous avons mesuré ces distances directement sur l'enregistrement obtenu en mesurant l'absorption des gels à 580 nm.

La courbe représentative des variations du logarithme du poids moléculaire en fonction de la mobilité relative étant une droite, nous avons déterminé les poids moléculaires des différentes chaînes polypeptidiques grâce à une droite d'étalonnage obtenue à partir de protéines témoins.

Il s'agissait de la sérum-albumine de boeuf (PM = 68.000), l'ovalbumine (PM = 43.000), l'alpha-chymotrypsine (PM = 25.700), la trypsine (PM = 23.300), l'hémoglobine (PM = 15.500), le lysosyme (PM = 14.300) et la ribonucléase (PM = 12.640).

VI ANALYSE ANTIGENIQUE

Nous avons fait appel à la technique d'immunodiffusion double d'OUCHTERLONY (387) en suivant le mode opératoire décrit par BENMICH et KARLSON (43).

I) Matériel.

- Plaques de verre de 9,5 x 8,5 cm, gabarits et emportes pièces LKB.

2) Réactifs.

. Solution de gélose

agar noble purifié	1 g
Chlorure de sodium	1 g
Azide de sodium	0,1 g
Eau distillée q s p	100 ml

. Solution de lavage

solution aqueuse de NaCl à 1 p. 100.

. Solution de coloration

Noir amide.....	1 g
Solution de décoloration	1 l

. Solution de décoloration

Méthanol	45 ml
Acide acétique	10 ml
Eau distillée	45 ml

. Sérums de lapins hyperimmunisés.

Nous avons immunisé deux lots de deux lapins. Ces animaux ont été tondus au niveau des côtes sur 10 cm, puis ont reçu sous forme de dix boutonnières intradermiques, 1 ml de solution isotonique contenant 1 mg d'antigène associé à l'adjuvant de Freund incomplet. A J + 6, J + 12, J + 18 ils ont reçu la même dose d'antigène sans adjuvant, respectivement par voie sous cutanée, intramusculaire et intrapéritonéale. Le sang a été recueilli par ponction cardiaque 14 jours après la dernière immunisation.

Le premier lot de lapins a été ainsi immunisé à l'aide de la fraction antigénique brute tandis que le second a reçu les constituants de poids moléculaires supérieurs à $1,2.10^6$ isolés à partir de cette fraction par chromatographie d'exclusion sur ultragel AcA - 22. (pic I)

3) Mode opératoire.

Les plaques de verre sont recouvertes de 14 ml de solution de gélose préalablement liquéfiée au bain-marie, puis conservées en chambre humide. Au moment de l'emploi, on perce dans le gel un trou central de 3 mm de diamètre dans lequel on introduit un disque de gel contenant l'une des protéines séparées par électrophorèse sur polyacrylamide - SDS. A une distance de 1 cm du trou central, on perce des trous périphériques recevant les divers antisérums.

La diffusion s'effectue en chambre humide pendant 24 heures. Après une première observation directe les plaques sont lavées pendant 24 heures, colorées au noir amide puis décolorées. On peut les conserver ainsi après séchage.

VII DOSAGES COLORIMETRIQUES

I) Dosage des protéines.

Nous avons utilisé la méthode de LOWRY adaptée à l'Autoanalyzer Technicon par CASTAIGNE (87). Il s'agit d'une réaction colorée spécifique des acides aminés aromatiques contenus dans les protéines, qui se développe en deux étapes :

- réaction de la protéine avec le cuivre en milieu alcalin.

- réduction du réactif phosphomolybdique - phosphotungstique de FOLIN par la protéine ainsi traitée. La coloration bleue obtenue est mesurée à 650 nm.

Les réactifs employés étaient les suivants :

. réactif de FOLIN-CIOCALTEU du phénol (Produit Merck n° 9001), dilué au tiers avec de l'eau distillée au moment de l'emploi.

. réactif cuprique :

Cu SO ₄ , 5 H ₂ O.....	1 g
Tartrate de sodium	2 g
H ₂ O distillée ... q s p	1000 ml

. réactif alcalin :

Na OH 10 N	40 ml
Na ₂ CO ₃	42,4 g
H ₂ O distillée ... q s p	2000 ml

Chaque série de dosages comportait une gamme étalon de sérum-albumine bovine (produit NBC) à des concentrations variant de 10 à 180 µg.

2) Dosage des acides aminés.

Pour chacune des fractions, des prises d'essai exactement pesées et contenant entre 30 et 1.000 microgrammes de protéines ont été hydrolysées par H Cl 6 N (2 ml) en ampoules scellées sous vide maintenues pendant 24 heures à 100°C. Les hydrolysats obtenus ont été analysés à l'aide d'un analyseur d'acides aminés Beckmann modèle 120 C, selon la méthode de MOORE et STEIN (367 bis) en suivant le mode opératoire proposé par SPACKMAN et Coll. (448 bis).

Les résultats sont exprimés en résidus d'acides aminés pour cent résidus.

Les hexosamines ont été identifiées d'après leur position sur le diagramme d'élution fourni par l'analyseur d'acides aminés.

VIII ETUDE DU POUVOIR PROTECTEUR DES DIFFERENTES FRACTIONS

I) Voie orale.

Chaque souris a reçu quotidiennement pendant 5 jours consécutifs 200 microgrammes de fraction antigénique dissoute dans 0,5 ml d'eau distillée, cette dose étant administrée à l'aide d'une sonde oesophagienne adaptée à l'extrémité d'une seringue à insuline.

Parallèlement des doses de 0,5 ml d'eau distillée ont été données à un lot de souris témoins.

Les animaux ont été éprouvés, un mois après la première vaccination, à l'aide d'une dose létale correspondant à $3,3 \times 10^4$ germes pathogènes (Salmonella typhimurium C 5 S), introduite par la même voie.

2) Voie intrapéritonéale.

Chaque souris a reçu, à 15 jours d'intervalle, deux injections intrapéritonéales de 200 microgrammes d'antigène dissous dans 0,5 ml de solution isotonique de NaCl et a été éprouvée, un mois après la première vaccination, à l'aide d'une injection intrapéritonéale correspondant à $3,3 \times 10^3$ ou $2,1 \times 10^3$ bactéries pathogènes.

Les animaux témoins n'avaient reçu que deux injections de 0,5 ml de sérum physiologique.

CHAPITRE II

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I FRACTIONNEMENT DE L'ANTIGÈNE BRUT PAR CHROMATOGRAPHIE D'EXCLUSION :

Le diagramme d'élution obtenu après chromatographie de la préparation antigénique brute (PM supérieur à 300.000), sur Ultrogel Ac A 22 est présenté sur la figure 1.

On voit d'après cette courbe que l'antigène est fractionné en deux pics nettement séparés. Le premier pic (Pic I Ac A 22) est totalement exclu du gel, tandis que le second (Pic II Ac A 22) est fortement retenu. Les fractions correspondant à ces deux pics ont été ensuite réunies, lyophilisées et pesées. Elles représentent respectivement 25 et 75 % de la quantité totale de produit récupéré.

Le pic II Ac A 22 paraissant très hétérogène en électrophorèse sur colonne d'acrylamide - SDS, nous l'avons soumis à une nouvelle chromatographie d'exclusion sur Ultrogel Ac A 34.

La courbe d'élution est donnée par la figure 2. On obtient ici encore deux pics nettement séparés. Après lyophilisation, les pics I Ac A 34 et II Ac A 34 représentent respectivement 20 et 80 % de la quantité totale de produit recueilli.

II FRACTIONNEMENT DU PIC II Ac A 34 PAR CHROMATOGRAPHIE SUR HYDROXYLAPATITE :

Le pic II Ac A 34 s'étant révélé hétérogène en électrophorèse sur colonne d'acrylamide - SDS, nous l'avons fractionné par chromatographie sur colonne d'hydroxylapatite.

Le profil d'élution obtenu en utilisant sept tampons phosphates de pH 6,5 mais de molarités croissantes est donné par la figure 3.

On recueille ainsi, en sortie de colonne, quatre pics parfaitement séparés. Les fractions correspondantes ont été dialysées pour éliminer le tampon, puis lyophilisées et pesées. On constate que chacun de ces pics représente respectivement et dans l'ordre, 34,1, 29,6, 18,6, et 17,7 % du poids de substance recueillie (pics I, II, III, et IV HA).

III ANALYSE ANTIGÉNIQUE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS :

Les résultats de l'immunodiffusion des différents pics en présence de sérums de lapins immunisés soit à l'aide de l'antigène brut, soit à l'aide du pic I Ac A 22 sont donnés dans le tableau I.

Il apparaît que toutes les fractions séparées par chromatographie, sauf le pic II Ac A 34 et le pic I HA donnent un arc de précipitation avec chacun de ces sérums.

IV ETUDE DU POUVOIR PROTECTEUR DES DIFFÉRENTES FRACTIONS :

Les résultats des essais d'immunisation de la souris contre une dose létale de Salmonella typhimurium C 5 S sont donnés dans les tableaux II et III.

On constate que les fractions séparées par chromatographie d'exclusion (tableau II) ne vaccinent pas très efficacement les animaux lorsqu'elles sont injectées par voie intrapéritonéale. En effet, l'augmentation du taux de survie est pratiquement négligeable ; toutefois, la durée moyenne de survie (DMS) des souris éprouvées se trouve améliorée de manière significative.

En revanche, ces mêmes fractions administrées par voie buccale manifestent un pouvoir protecteur marqué, puisqu'elles prolongent toutes la durée moyenne de survie des animaux et qu'à l'exception du pic I Ac A 34 elles diminuent considérablement le taux de mortalité de ces derniers.

En ce qui concerne les pics séparés par chromatographie sur colonne d'échangeur d'ions (Tableau III), nous n'avons pas pu, faute de temps, préparer des quantités d'antigène suffisantes pour immuniser des lots de souris par voie orale. Toutefois, l'augmentation de la durée moyenne de survie observée chez les animaux vaccinés par voie intrapéritonéale permet de penser que le pouvoir protecteur de ces fractions doit être sensiblement identique à celui des pics séparés par chromatographie d'exclusion.

V ANALYSE ELECTROPHORETIQUE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS :

Les diagrammes de l'analyse électrophorétique des différentes fractions, préalablement soumises à une dépolymérisation, sont donnés dans les figures 4 à 9.

Nous avons déterminé le poids moléculaire des sous unités ainsi séparées, en nous référant à la courbe d'étalonnage obtenue à l'aide du mélange des protéines témoins (figure 10). Les résultats se trouvent groupés dans le tableau IV. Les numéros d'ordre des bandes sont ceux qui figurent sur les diagrammes électrophorétiques correspondants.

Il ressort de l'ensemble de ces données que les pics séparés par chromatographie renferment des constituants formés de plusieurs chaînes polypeptidiques différentes, à l'exception du pic I HA et du pic II H A. En effet, le diagramme électrophorétique du pic I HA correspond manifestement au monomère, au dimère et au trimère d'une même sous-unité de poids moléculaire voisin de 14.000, tandis que le diagramme électrophorétique du pic II HA pourrait traduire la présence du dimère, du trimère et du tétramère d'une sous unité de poids moléculaire voisin de 15.000.

VI ANALYSE CHIMIQUE DES PICS SEPARES SUR HYDROXYLAPATITE.

Les résultats de l'analyse chimique des pics séparés sur la colonne d'hydroxylapatite sont donnés dans le tableau V.

On constate des différences profondes dans la composition en amino-acides des différents pics.

La présence d'hexosamines dans toutes les fractions analysées est une caractéristique intéressante, dans la mesure où elle montre qu'on a affaire à des glycoprotéines. La caractérisation et le dosage précis de ces hexosamines auraient exigé le recours à une autre technique plus précise, telle que la chromatographie en phase gazeuse. Nous n'avons pas eu le temps d'entreprendre une telle étude.

La recherche et l'identification des autres glucides nécessiteront également une étude ultérieure.

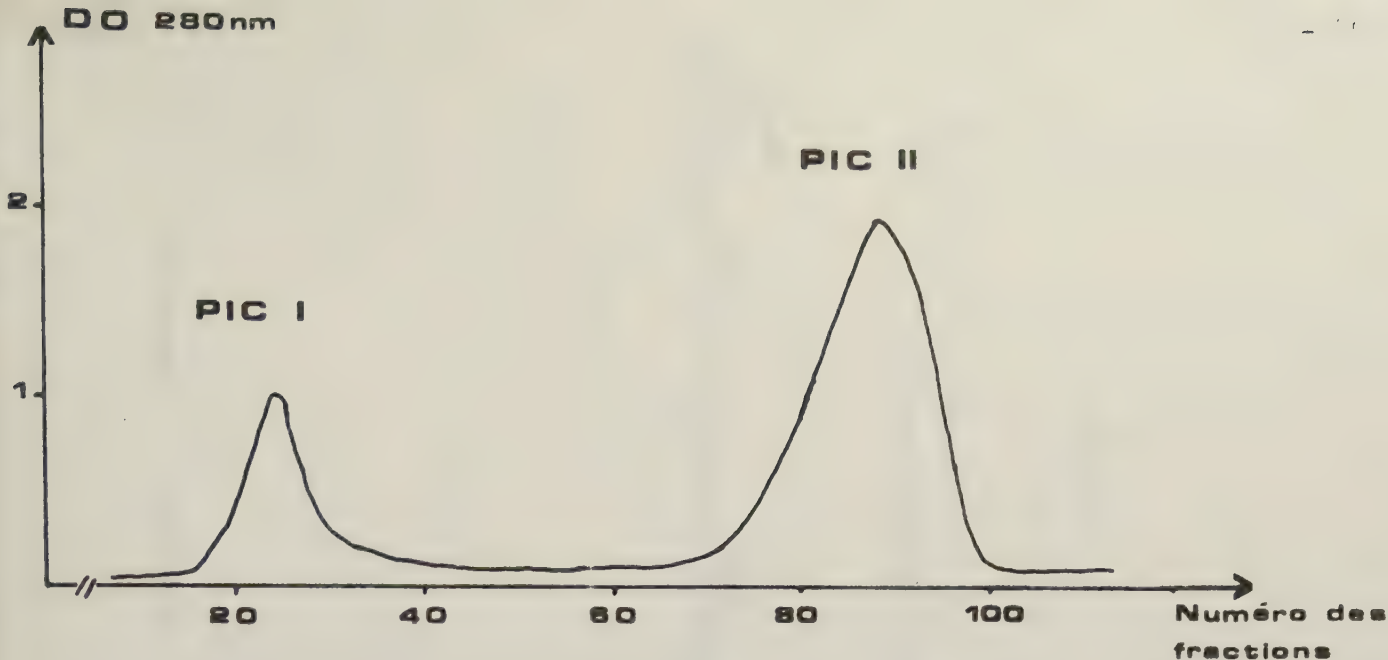


FIGURE 1 : Diagramme d'élution de la préparation antigénique brute à partir de l'Ultrogel AcA 22
 Prise d'essai : 465 mg ; Pic I : 106 mg ; Pic II : 327 mg.
 Volume des fractions : 5 ml, Débit 15 ml/h.

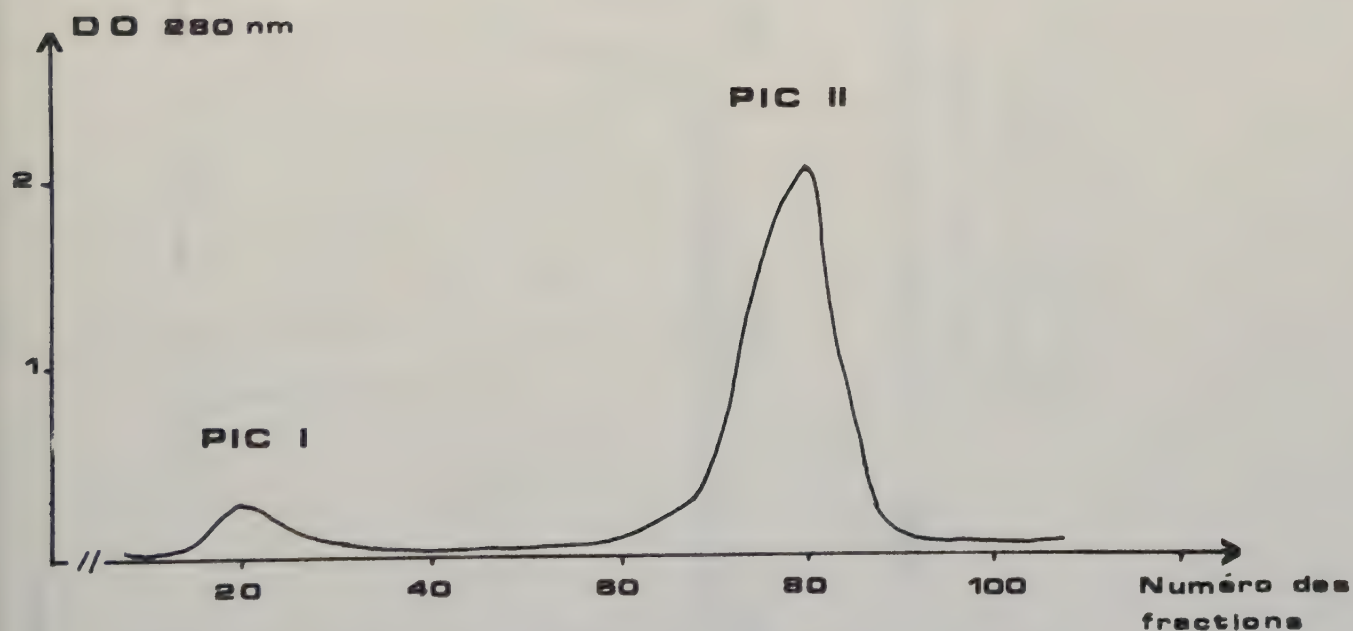


FIGURE 2 : Diagramme d'élution du pic II AcA 22 à partir de l'Ultrogel AcA 34.
 Prise d'essai : 300 mg ; Pic I : 20 mg ; Pic II : 225 mg.
 Volume des fractions : 5 ml. Débit 15 ml/h.

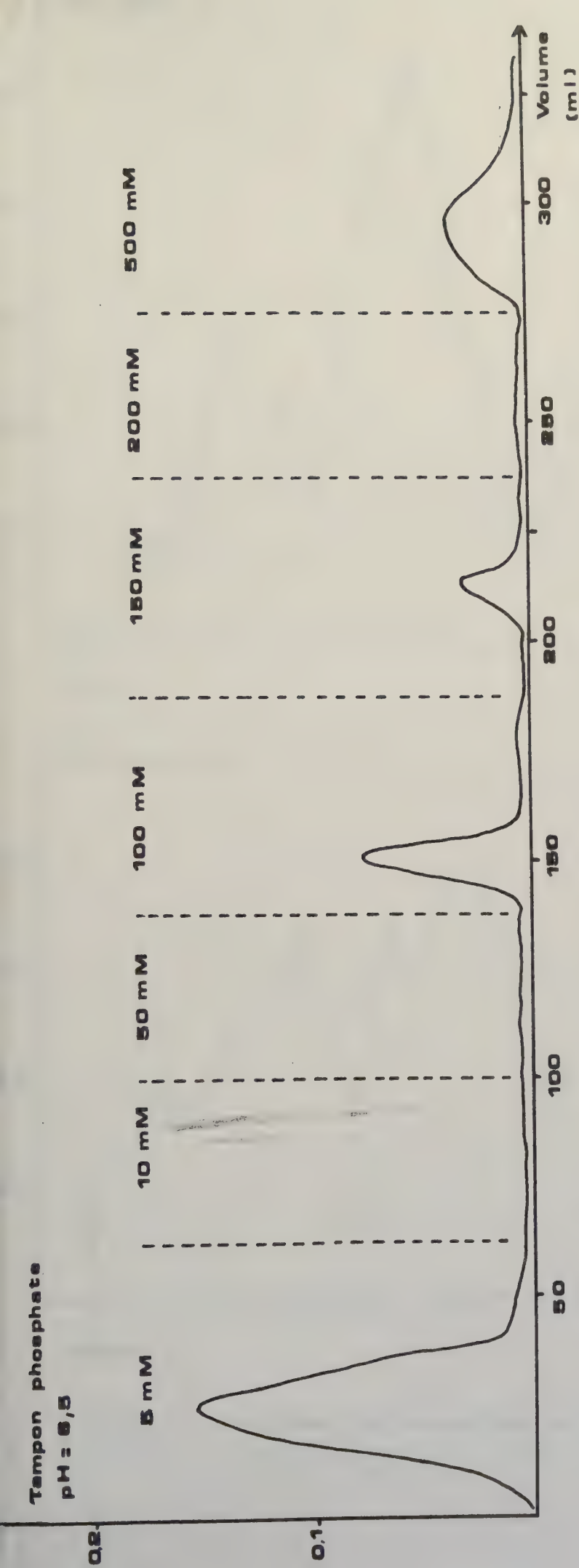


FIGURE 3 : Diagramme d'élution du pic 2 AcA 34 à partir de la colonne d'hydroxylapatite.

Prise d'essai : 250 mg ; Pic I : 77 mg ; Pic II : 67 mg ; Pic III : 42 mg ; Pic IV : 40 mg

Volume des fractions : 1,5 ml ; Débit : 10 ml/h.

Molarités des tampons phosphates de pH 6,3 : I : 5 mM ; II : 10 mM ;

III : 50 mM ; IV : 100 mM ; V : 150 mM ; VI : 200 mM ; VII : 500 mM.

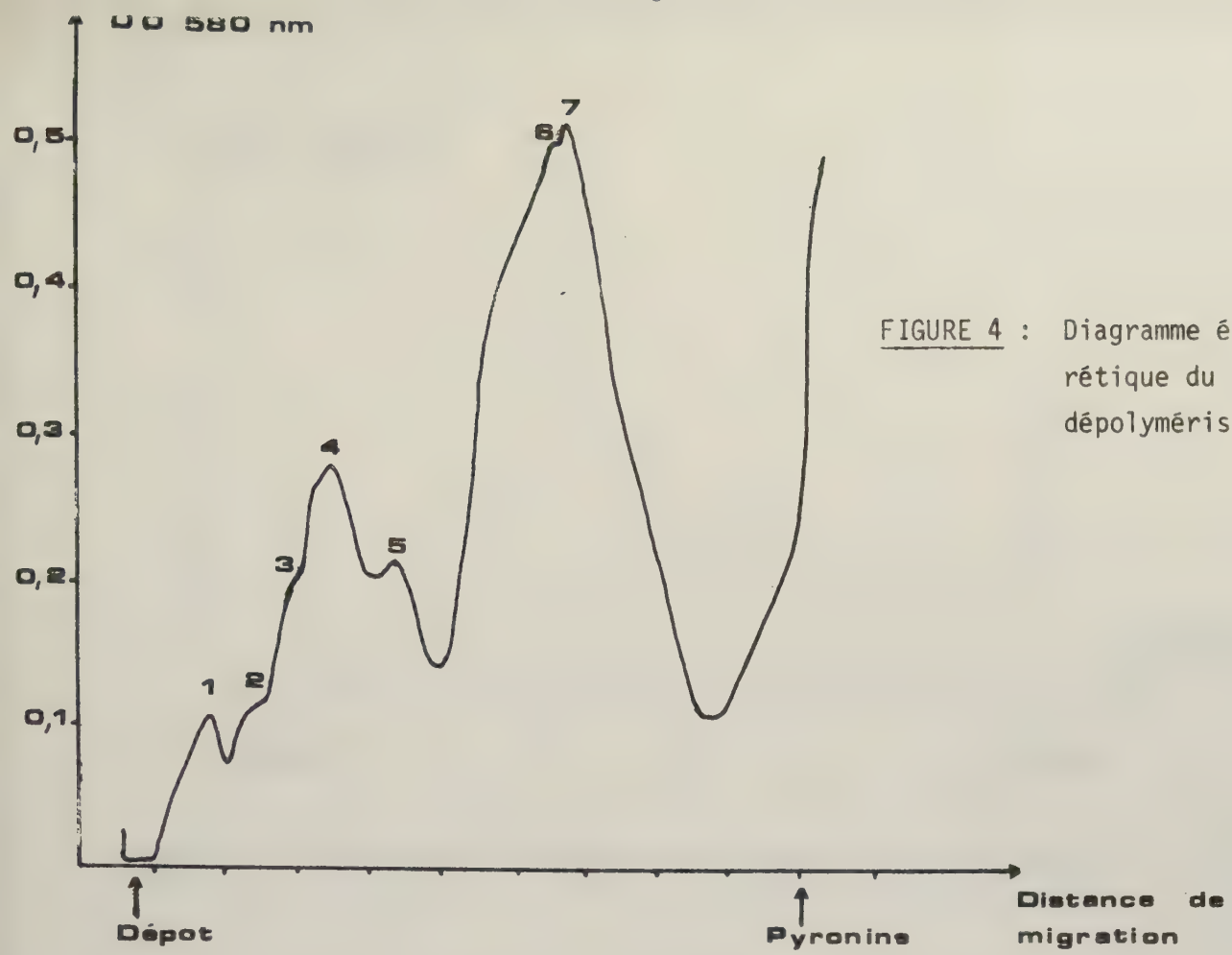


FIGURE 4 : Diagramme électrophorétique du Pic I AcA 34 dépolymérisé.

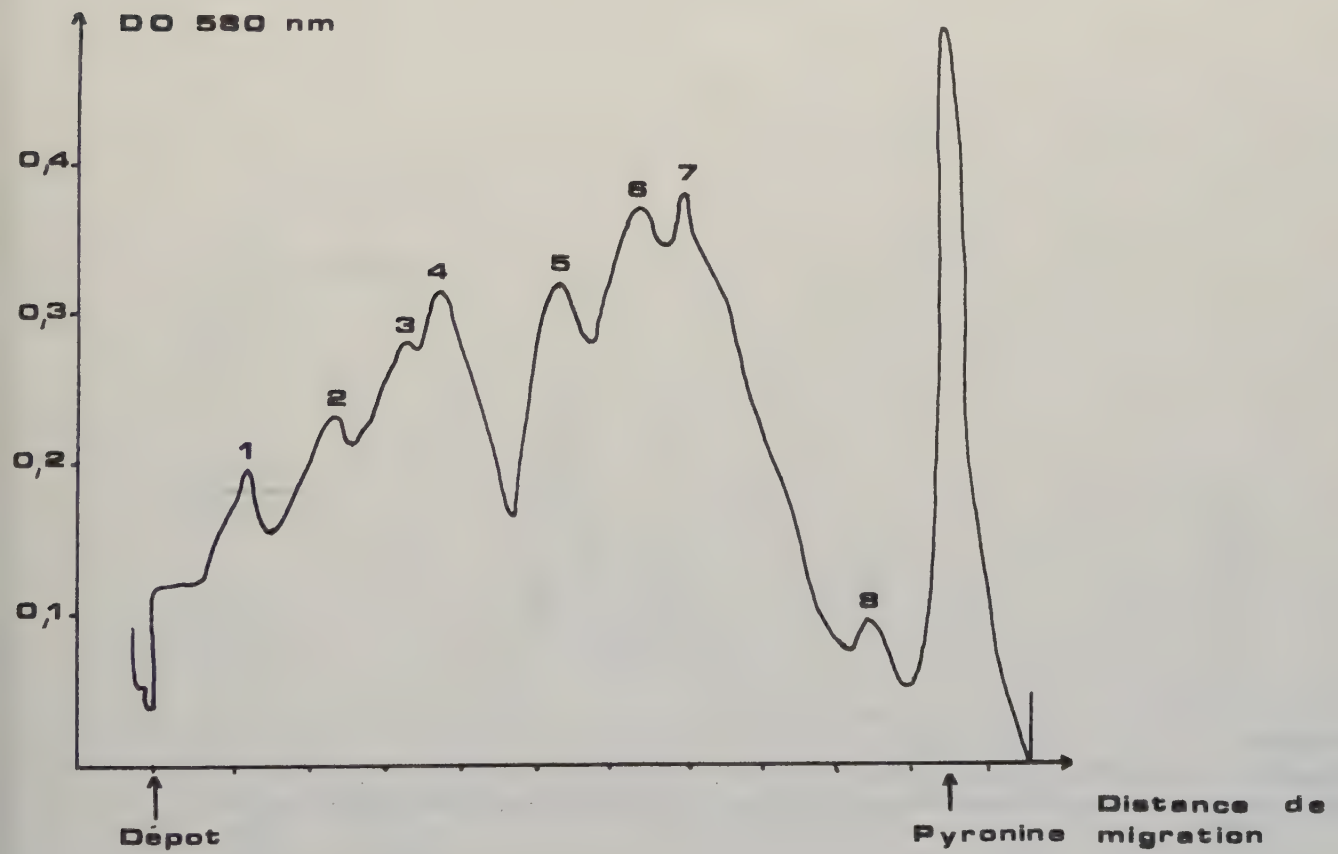


FIGURE 5 : Diagramme électrophorétique du Pic II AcA 34 dépolymérisé.

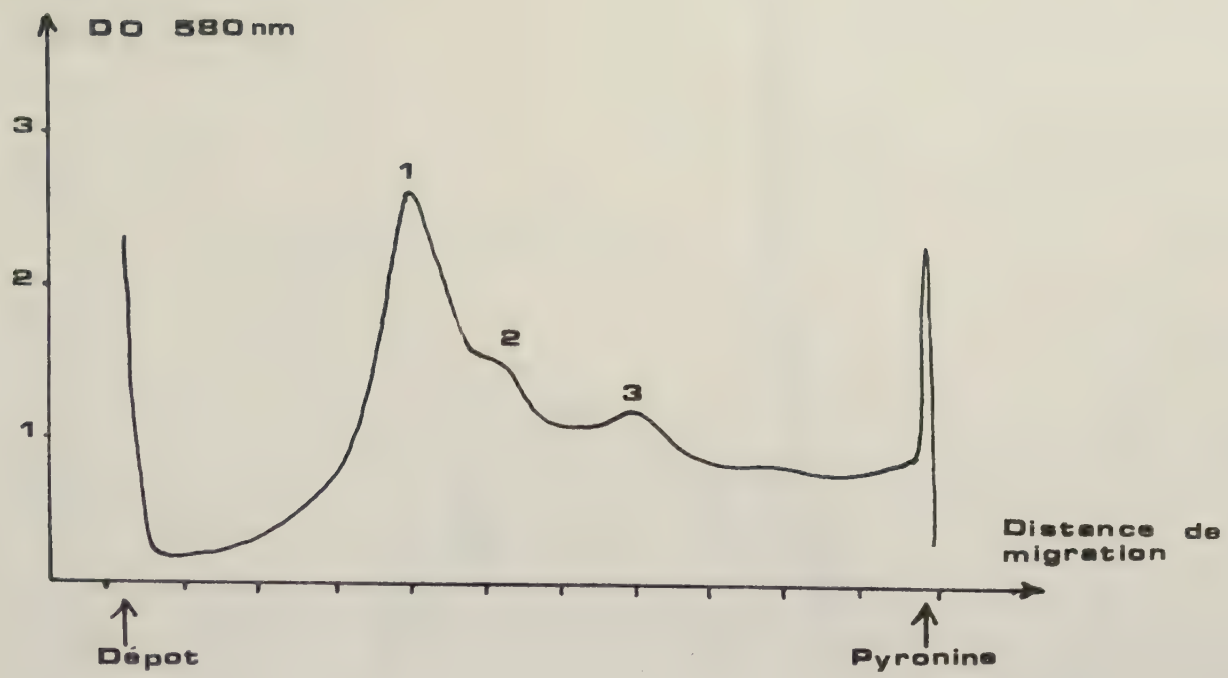


FIGURE 6 : Diagramme électrophorétique du Pic I HA dépolymérisé.

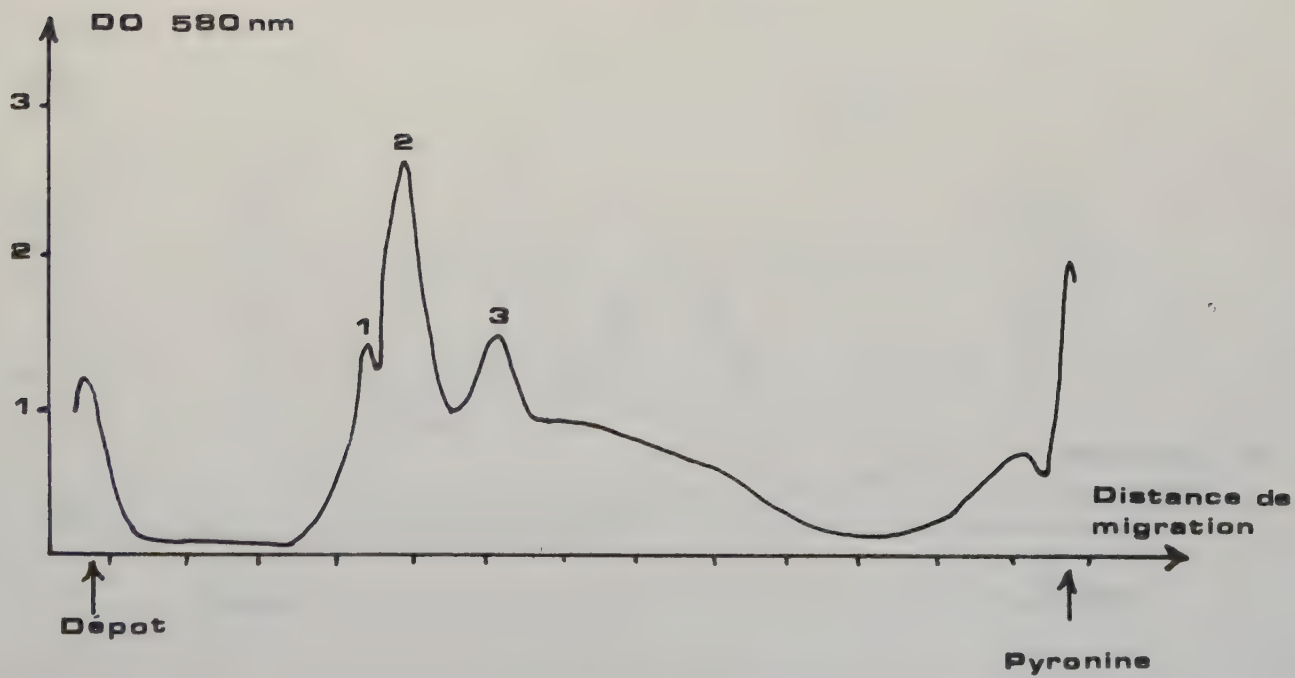


FIGURE 7 : Diagramme électrophorétique du Pic II HA dépolymérisé.

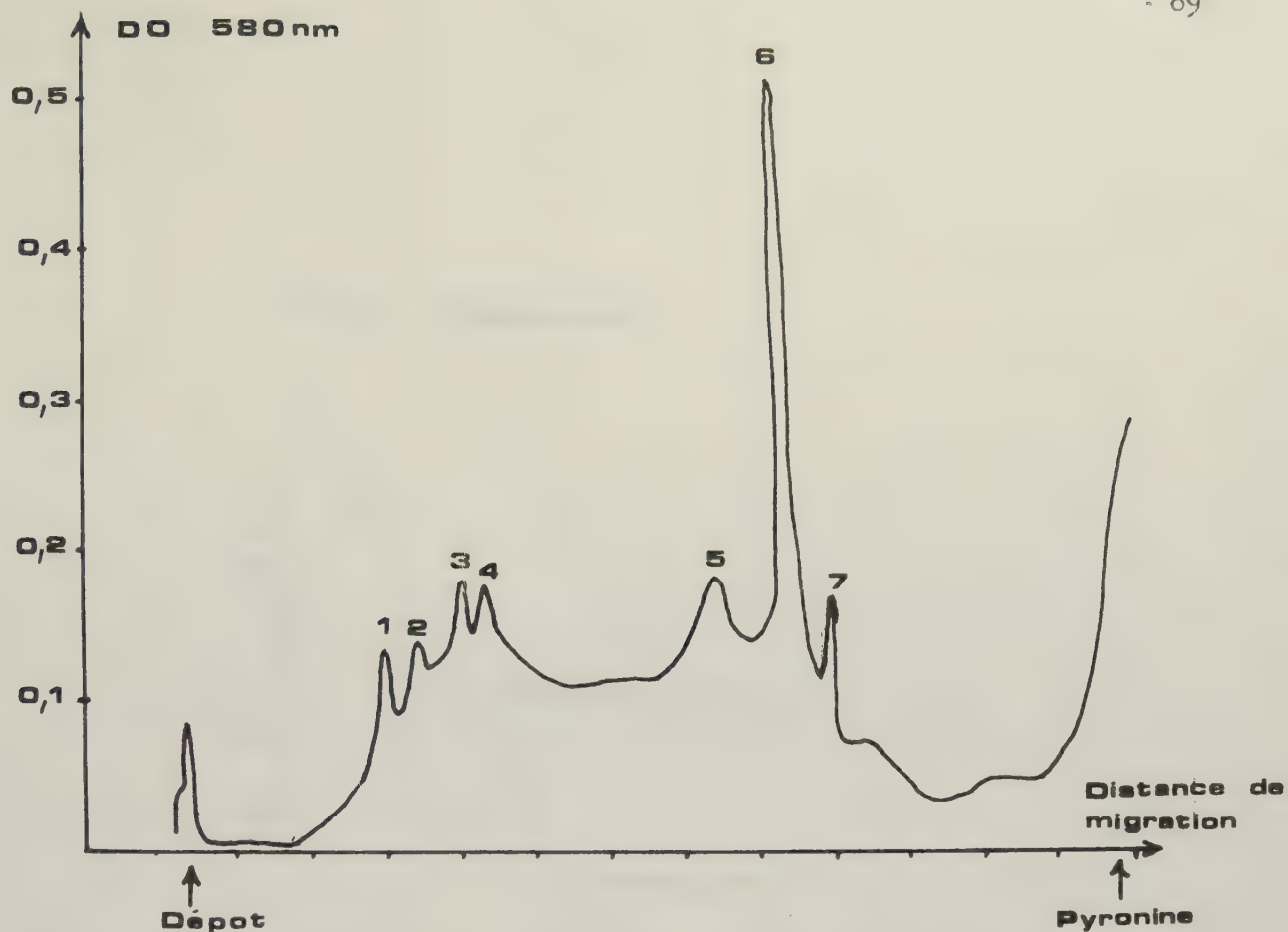


FIGURE 8 : Diagramme électrophorétique du Pic III HA dépolymérisé.

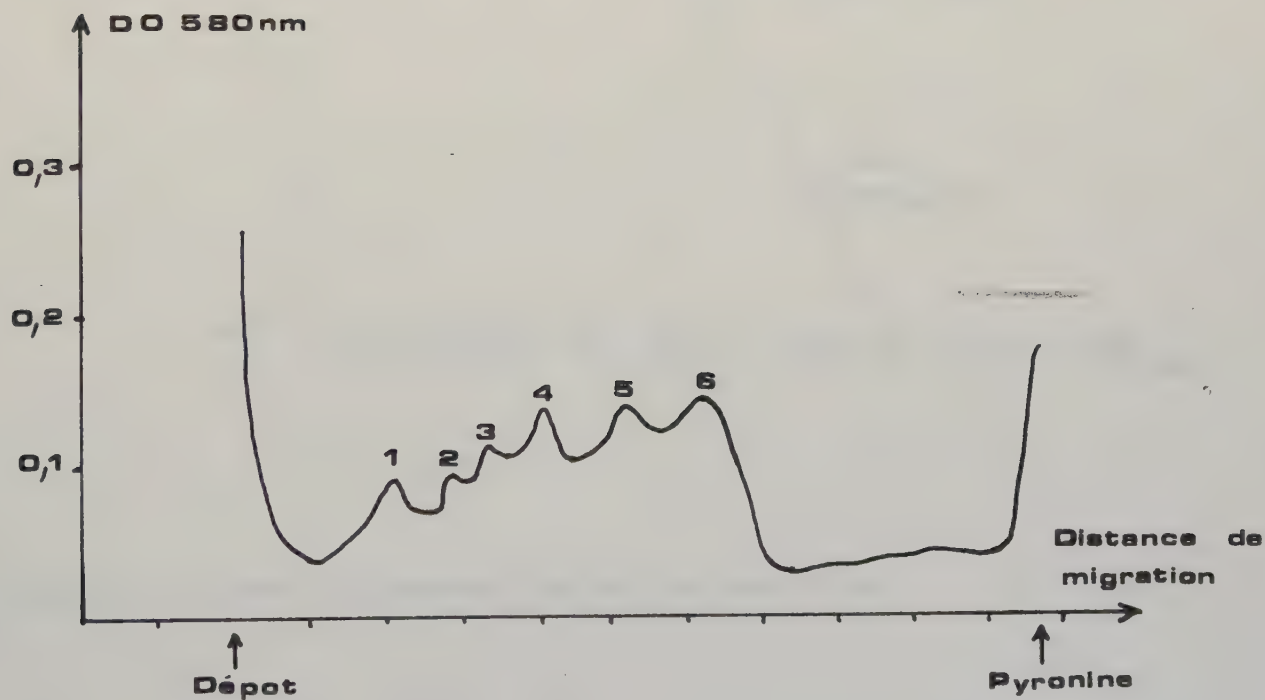


FIGURE 9 : Diagramme électrophorétique du Pic IV HA dépolymérisé.

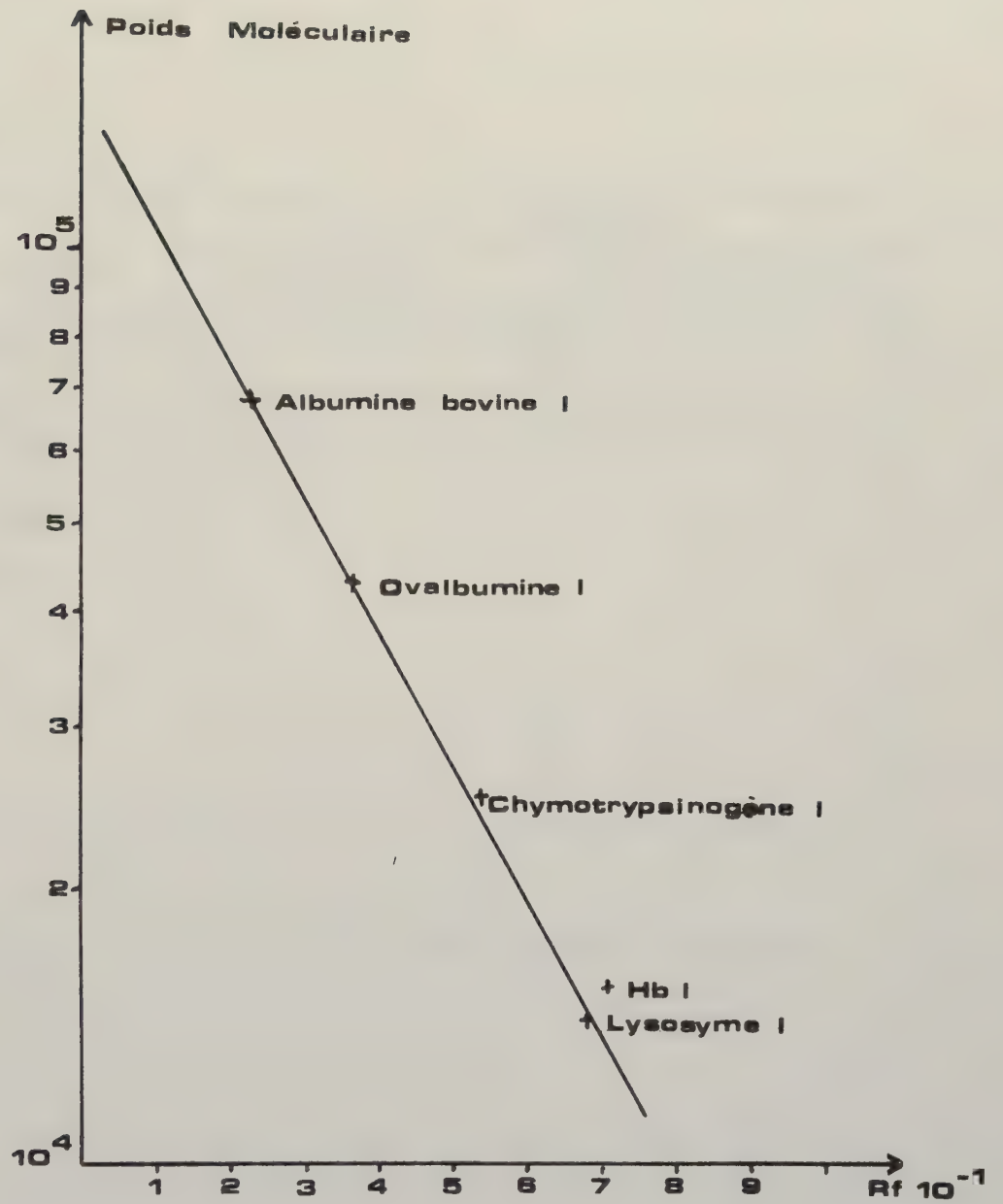


FIGURE 10 : Courbe d'étalonnage des poids moléculaires.

Nature de l'antigène	Nature de l'immunsérum	
	Anti-totum	Anti Pic I AcA 22
Antigène brut	+	+
Pic I AcA 22	+	+
Pic II AcA 22	+	+
Pic I AcA 34	+	+
Pic II AcA 34	-	-
Pic I HA	-	-
Pic II HA	+	+
Pic III HA	+	+
Pic IV HA	+	+

TABLEAU I - Analyse antigénique des différentes fractions.

Nature des vaccins	Voie orale (3.3×10^4 germes)		Voie intrapéritonéale (3.3×10^3 germes)	
	Durée moyenne de survie	Taux de survie	Durée moyenne de survie	Taux de survie
Antigène brut	12,3	9/17	9,75	0/20
Pic I AcA 22	9,8	8/20	9,6	1/20
Pic II AcA 22	10	6/19	7,5	1/20
Pic I AcA 34	10,7	1/10	8,2	0/15
Pic II AcA 34	9,8	7/19	7,75	0/20
Témoins non vaccinés	9,2	4/19	4,8	0/19

TABLEAU II - Etude du pouvoir protecteur des fractions
séparées par chromatographie d'exclusion.

La durée moyenne de survie (DMS) est exprimée en jours.

La durée de l'observation était de 21 jours.

Nature des vaccins	Voie intrapéritonéale ($2,1 \times 10^3$ germes)	
	Durée moyenne de survie	Taux de survie
Pic I HA	7,3	0/20
Pic II HA	8	0/20
Pic III HA	8,25	0/20
Pic IV HA	7,85	0/20
Témoins non vaccinés	4,75	0/20

TABEAU III - Etude du pouvoir protecteur des fractions
séparées par chromatographie sur hydroxylapatite.

DMS exprimée en jours

Durée de l'observation 21 jours.

Fractions analysées	Teneur en protéines %	N° d'ordre des bandes	Poids moléculaire approximatif (± 10 p.100)
Pic I AcA 34	72%	1	14.500
		2	17.500
		3	20.500
		4	35.000
		5	46.500
		6	57.000
		7	68.000
		8	87.000
Pic II AcA 34	60%	1	8.000
		2	12.500
		3	14.500
		4	22.000
		5	34.000
		6	43.000
		7	54.000
		8	82.000
Pic I HA	à déterminer	1	13.500
		2	28.500
		3	43.500
Pic II HA	37%	1	32.000
		2	46.000
		3	55.000
Pic III HA	50%	1	13.000
		2	16.500
		3	20.500
		4	53.000
		5	57.000
		6	73.000
		7	82.000
Pic IV HA	27%	1	18.500
		2	26.000
		3	42.000
		4	55.000
		5	65.000
		6	88.000

TABEAU IV - Détermination du poids moléculaire des sous-unités protéiques de chaque fraction.

Nature des constituants	FRACTIONS ANALYSEES			
	Pic I HA	Pic II HA	Pic III HA	Pic IV HA
Lysine	2,2	1,6	8,2	
Histidine		2,1		
Arginine	1,1	5,5	1,9	
Ac.Aspartique		0,7	3,7	4,3
Thréonine	3,1	6,5	3,8	
Serine	7,6	10,7	10,2	10,9
Ac.glutamique	10,6	18,3	11,2	4,5
Proline	0,9	7,2		
Glycine	18,5	20,5	24,4	8,2
Alanine	7,6	14,4	14,4	72,1
Valine	19,5	3,1	4,2	
Méthionine				
Isoleucine	1,1	1,9	2,8	
Leucine	2,0	4,7	7,9	
Tyrosine		1,3	1,9	
Phenylalanine	17,4	1,3	5,2	
Glucosamine	+	+++	++	+++
Galactosamine ou Mannosamine	+++	+		
Autres hexosamines		+		

TABLEAU V - Analyse chimique des pics séparés sur hydroxylapatite.

DISCUSSION GENERALE

Les résultats expérimentaux obtenus jusqu'à présent, aussi bien chez l'homme que chez les animaux, ont démontré qu'en ce qui concerne les salmonelles les vaccins vivants protègent mieux contre une infection par des bactéries pathogènes homologues que les vaccins tués, soit par la chaleur, soit par les moyens chimiques. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour tenter d'expliquer ce phénomène.

D'après certains auteurs, l'antigène protecteur serait un constituant très labile, incapable de supporter sans altération les conditions physicochimiques de la préparation des vaccins inactivés (II3, 271) .

Pour d'autres, la bactérie ne synthétiserait le constituant immunogène qu'in vivo, ce dernier apparaissant comme étant le résultat des réactions de défense du micro organisme vis-à-vis de la cellule hôte (271, 380).

Selon d'autres enfin, la survie et la multiplication des vaccins vivants chez l'hôte seraient indispensables pour assurer une stimulation antigénique à la fois assez importante et assez prolongée (196).

Si les nombreux travaux concernant les antigènes O, H, Vi ou l'antigène commun des entérobactéries n'ont pas apporté la preuve que l'un de ces constituants était le support du pouvoir immunogène des salmonelles, les résultats obtenus au cours de la dernière décade, grâce à l'utilisation des "vaccins ribosomiques" ou de certains antigènes solubles, démontrent qu'il existe chez ces bactéries un antigène protecteur capable de vacciner efficacement les animaux et que cet antigène peut être synthétisé en dehors de l'organisme hôte.

Lorsque nous avons abordé cette étude, l'on ignorait cependant tout de la nature chimique de cette fraction antigénique, tant les conclusions des différents auteurs paraissaient contradictoires. Comme l'a souligné HOOPS (235), les conditions expérimentales ont tellement varié d'un laboratoire à l'autre qu'on pouvait difficilement s'attendre à des résultats concordants. De fait, les procédés de broyage des bactéries ou les méthodes de séparation et de purification des antigènes ne sont jamais les mêmes, pas plus que les espèces de souris utilisées pour les essais d'immunisation. Certains paramètres ne nous paraissent pas avoir été fixés de manière optimale, particulièrement en ce qui concerne la voie et le rythme des vaccinations, mais aussi l'importance et la voie d'introduction de la dose d'épreuve de bactéries pathogènes.

Pour essayer de déterminer la nature de l'antigène protecteur des salmonelles, nous avons pris comme point de départ les travaux d'IVANOFF et Coll. (244, 246, 249) montrant qu'on pouvait extraire du surnageant de culture de S. typhimurium M. 206 un constituant capable de protéger la souris aussi efficacement que le vaccin vivant correspondant. Tout au long de cette étude, nous avons conservé les conditions expérimentales établies par ces auteurs après des essais systématiques, celles-ci étant particulièrement importantes pour la vaccination par voie buccale.

Les résultats que nous avons obtenus en cherchant à purifier le constituant actif par chromatographie d'exclusion confirment et complètent les observations déjà faites par IVANOFF, CREACH et FONTANGES (129, 244, 246, 249), à savoir que le support chimique du pouvoir protecteur est lié à des structures moléculaires de tailles différentes. Des conclusions

similaires ont été avancées récemment par SEVERTSOVA et Coll. (432) en ce qui concerne les antigènes protecteurs solubles extraits par l'eau à partir des bactéries entières.

Les constatations que nous avons faites lors des essais de fractionnement du constituant immunogène par chromatographie sur échangeur d'ions se révèlent particulièrement intéressantes. Elles montrent en effet que ce dernier présente également une hétérogénéité de charge électrique. Mais on en retiendra surtout que la chromatographie sur colonne d'hydroxylapatite permet de séparer parfaitement quatre fractions différentes, dont deux (les pics I HA et II HA) paraissant résulter de l'association de chaînes glycoprotéiques identiques. Les poids moléculaires des sous unités constitutives se révèlent relativement faibles (14.000 environ pour les sous unités du pic I HA, 15.000 environ pour celles du pic II HA).

Les analyses que nous avons effectuées sur les différentes fractions purifiées se sont limitées au dosage des protéines et des différents acides aminés ainsi qu'à la recherche des hexosamines. Elles montrent que nous nous trouvons en présence de glycoprotéines, ce qui confirmerait l'une des hypothèses déjà émises par HOUGHENS (239) concernant la nature de l'antigène protecteur des salmonelles. Il va de soi qu'une analyse chimique plus approfondie sera nécessaire pour connaître la structure exacte de la glycoprotéine active.

En ce qui concerne les propriétés antigéniques des fractions purifiées, nous avons remarqué que deux des pics séparés par chromatographie (les pics II Ac A 34 et I HA) ne donnaient pas d'arc de précipitation en immunodiffusion, bien qu'ils soient capables de protéger la souris contre une infection expérimentale. Ces résultats se trouvent en accord avec ceux de SEVERTSOVA et Coll. (432) montrant que certains constituants présents dans un extrait aqueux de la bactérie entière possèdent un pouvoir protecteur certain, alors que leur activité sérologique est insignifiante. Il apparaît donc que la protection n'est pas liée aux anticorps circulants mais dépend plutôt de phénomènes immunitaires cellulaires. C'est d'ailleurs à cette même conclusion qu'ont déjà abouti les travaux de VENNEMAN, BERRY et Coll. (53, 487) sur les vaccins ribosomiques, mais aussi ceux de COLLINS (II7), de GERMANIER (196) et d'IVANOFF (249) sur les vaccins vivants et ceux de HERTZBERG (229) sur les vaccins inactivés.

Les essais de protection de la souris contre une dose létale de S. typhimurium C 5 S nous ont permis de constater qu'en ce qui concerne les fractions séparées par chromatographie d'exclusion, la voie orale est supérieure à la voie parentérale pour la vaccination. Cette observation se trouve en accord avec les résultats précédemment obtenus par IVANOFF, CREACH et FONTANGES (129, 244, 246, 249) à l'aide de constituants moins purifiés. Elle confirme également les conclusions émises par la plupart des auteurs qui ont essayé comparativement ces deux voies pour mesurer l'efficacité des vaccins vivants (II7, 247, 249, 281, 333, 470).

Bien que nous n'ayons pas eu le temps d'essayer la voie orale dans le cas des fractions séparées sur échangeur d'ions, il est probable que les résultats obtenus n'auraient modifié en rien les conclusions précédentes. Mais ceci devra être vérifié dans une étude ultérieure.

CONCLUSIONS

Aucun des principaux antigènes extraits jusqu'à présent des Salmonelles ne pouvant être considéré comme étant le support du pouvoir immunogène de ces bactéries, nous avons cherché à purifier et à caractériser l'antigène protecteur contenu dans le surnageant de culture d'un mutant avirulent de Salmonella typhimurium, la souche M 206.

Par chromatographie d'exclusion sur colonnes d'Ultrogel suivies d'une chromatographie par échange d'ions sur colonne d'hydroxylapatite, nous avons séparé plusieurs fractions capables de protéger la souris contre une dose létale de la souche pathogène homologue, leur efficacité étant plus nette si on les administre par la voie buccale plutôt que par la voie parentérale.

Il apparaît donc que le constituant actif est présent dans le surnageant sous des formes multiples se distinguant les unes des autres à la fois par leur taille et leur charge électrique.

L'analyse chimique des différentes fractions actives obtenues, dont l'une se révèle homogène en électrophorèse sur colonne d'acrylamide -SDS, montre que le pouvoir protecteur est lié à la présence d'une chaîne glycoprotéique.

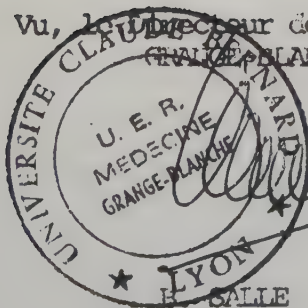
Le Président de la Thèse :
(nom et signature)

A. BERTOYE

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

LYON, le 12 OCT. 1977

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
G. BLANCHET,



Le Président de l'Université Claude Bernard
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales,



R E S U M E

L'examen approfondi des travaux consacrés jusqu'à présent à la vaccination contre les salmonelloses ayant montré que les résultats obtenus à l'aide des vaccins bactériens inactivés ou vivants ou des antigènes purifiés provenant des bactéries correspondantes ne permettait pas de connaître la nature exacte du constituant immunogène, une étude de l'antigène protecteur contenu dans le surnageant de culture de Salmonella typhimurium M 206 a été entreprise.

Il ressort des expériences réalisées que plusieurs constituants, se distinguant les uns des autres à la fois par leur taille et par leur charge électrique, sont capables de protéger la souris contre une infection expérimentale.

L'analyse chimique des diverses fractions actives obtenues, dont une fraction homogène, permet de penser que le support du pouvoir protecteur est de nature glycoprotéinique.

S U M M A R Y

Evidence being taken from a thorough investigation of the reports about immunization against salmonellosis that results provided by use of killed vaccines, living ones or purified antigens isolated from the same bacteria had not led to know the exact nature of the immunogenic moiety, a study of the protective antigen present in the supernatant medium of Salmonella typhimurium M 206 was undertaken.

These experiments revealed that many components, differing by their size and electric charge were able to protect mice against a challenge infection.

Chemical analysis of all isolated protective fractions, one of them being homogenous, allows to think that a glycoprotein is responsible for immunity.

B I B L I O G R A P H I E

=====

- (1) ADA (G.L.), NOSSAL (G.J.V.), PYE (J.), ABBOT (A.)
Properties of flagellar antigens from Salmonella
Nature 1963 199 (1257).

- (2) ADA (G.L.), NOSSAL (G.J.V.), PYE (J.) and ABBOT (A.)
Antigens in immunity - I Preparation and properties of flagellar antigens
from Salmonella adelaide.
J. Exp. Biol. Med. Sci 1964 42 (267).

- (3) ADA (G.L.), PARISH (C.R.), NOSSAL (G.J.V.) and ABBOT (A.)
The tissue localization, immunogenic, and tolerance inducing properties
of antigens and antigen-fragments.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 1967 32 (381).

- (4) AGARWAL (S.C.)
Chloramphenicol resistance of Salmonella species in India, 1959-61.
Bull. Org. Mond. Santé 1962 27 (331).

- (5) ALAIZE (M.).
Manifestations pathologiques observées après vaccination antityphoïdique
simple ou associée.
Thèse Med. LYON 1941.

- (6) ALEKSANDER (S.K.), LYASHENKO (V.A.)
Une étude sur les propriétés immunogènes de fractions d'antigène Vi de
masses moléculaires différentes (en Russe).
Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1974 n° 4 (114).

- (7) ALEKSANDER (S.K.), LYASHENKO (V.A.)
Propriétés immunologiques et rôle du composant de faible masse moléculaire
dans la préparation d'antigène Vi de Salmonella typhi (en Russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1975 n° 6 (28).

- (8) ALMON (L.), READ (J.) and STOVALL (W.D.)
Study of Vi antigenic fraction of typhoid bacille isolated from carriers and cases, and antibody content of serum of these patients.
Amer J. Pbl. Hlth 1937 27 (357-362).
- (9) AMBLER and REES
Epsilon - N - Methyl - lysine in Bacterial Flagellar protein.
Nature 1959 184 (56-57).
- (10) ANDERSON (E.S.) and SMITH (H.R.)
Chloramphenicol resistance in the typhoid bacillus
Brit. Med. J. 1972 3 (329).
- (11) ANDO (K) and NAKAMURA (Y)
Studies on the Vi antigen of typhoid bacilli
II On a method of staining Vi antigen as a capsule.
Jap. J. Exp. Med. 1951 21 (41-44).
- (12) ANDO (K.)
Studies on the nature of immunity in experimental typhoid. Application of "chrome-vaccine" in mouse typhoid. I Parenteral immunization against S. enteritidis infection in mice. II Oral immunization against S. enteritidis infection in mice.
Jap. J. Exp. Med. 1954, 24, (27 et 141).
- (13) ANDRE (C.), BAZIN (H.) and HEREMANS (J.F.)
Influence of repeated administration of antigen by the oral route on specific antibody producing cells in the mouse spleen.
Digestion 1973, 9, (166-175).
- (14) ANDREWS (F.W.)
Studies in group-agglutination. I The Salmonella group and its antigenic structure.
J. Path. Bact. 1922, 25, (505).
- (15) Anonyme
Les vaccinations - Généralités.
Publication de l'Institut Mérieux - 5e édition - 1977.

- (16) AOKI (S.), MERKEL (M.) and Mc. CABE (W.R.)
Immuno fluorescent demonstration of the common enterobacterial antigen.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1966, 121, (230-234).
- (17) ARCHER (G.T.L.), WHITBY (J.L.)
Protection of mice by living Vi and O vaccines against death caused by
Salmonella paratyphi C.
J. Hyg. 1957, 55, (513).
- (18) ARCHER (J.R.) and ROWLEY (D.)
A quantitative comparison of the antigenic structure of a virulent and an
avirulent strain of Salmonella thyphimurium
Immunology 1969, 17, (551-558).
- (20) ARDA (M.)
An experiment on the vaccination of chickens against fowl typhoid
with 9R strain of Salmonella gallinarum administered through drinking water
(en Turc).
Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 1971, 18, (229-238).
- (21) ARKWIGHT (J.A.)
The value of different kinds of antigens in prophylatic enteric vaccines.
J. Pathol. Bacteriol., 1927, 30, (345).
- (22) ASAKURA (S.), EGUCHI (G.) and IINO (T.)
The reconstitution of bacterial flagella in vitro.
J. Mol. Biol. 1964, 10, (42).
- (23) ASHCROFT (H.T.), SINGH (B.), NICHOLSON (C.C.), RITCHIE (J.M.), SOBRYAN (E.)
and WILLIAMS (F.)
A seven-years field trial of two typhoid vaccines in Guyana.
Lancet 1967, II, (1056).
- (24) ASHIDA (T.)
Studies on the antigenic substances of Eberthella typhosa.
Jap. J. Exp. Med. 1949, 20, (181-209).

- (25) ASTBURY (W.T.), and WEIBULL (C.)
X-ray diffraction study of the structure of bacterial flagella.
Nature 1949, 163, (280)
- (26) ASTBURY (W.T.), BEIGHTON (E.), and WEIBULL (C.)
The structure of bacterial flagella.
Symp. Soc. Exp. Biol. 1955 9(282.)
- (27) AUZINS (I.) and ROWLEY (D.)
Factors involved in the adherence of Salmonella typhimurium C-5 and mouse peritoneal macrophage.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1963, 41, (539-546).
- (28) BACON (G.A.), BURROWS (T.W.), and YATES (M.)
The effects of biochemical mutation on the virulence of Bacterium typhosum : the induction and isolation of mutants. The virulence of mutants.
Brit. J. Exp. Path. 1951, 31, (703 et 714).
- (29) BAKER (E.E.), WHITESIDE (R.E.), BASCH (R.) and DEROW (M.A.).
The Vi antigens of the Enterobacteriaceae - I - Purification and chemical properties.
J. Immunol. 1959, 83, (680-686).
- (30) BAKER (E.E.), WHITESIDE (R.E.), BASCH (R.) and DEROW (M.A.).
The Vi antigens of the enterobacteriaceae - II - Immunologic and biologic properties.
J. Immunol. 1953, 83, (686).
- (31) BAKER (E.E.), WHITESIDE (R.E.)
Vi antigens of the enterobacteriaceae - IV - Purification and properties of Vi antigens of Salmonella paratyphi C.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 1960, 105, (328).
- (32) BARBER (C.) and EYLAN (E.)
The heat resistant antigens of Salmonella paratyphi A and their relationship to Salmonella typhi and Salmonella typhimurium.
Zentralbl. Bakteriell Parasitenkd Infektionskr I. Abt. 1974, 226, (324).

- (33) BARBER (C.) and EYLAN (E.)

The proteins from Salmonella enteritidis ; their protective role in mice, and the antibodies induced during infection with the homologous strain.

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt. 1974, 226, (331).

- (34) BARBER (C.) and EYLAN (E.).

Heterologous protections in experimental salmonellosis

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt. 1975, 230, (452).

- (35) BARBER (C.) and EYLAN (E.)

Cross protection induced in mice by immunizations with proteins of related bacteria species.

Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt. 1976, 234, (46).

- (36) BARON (L.S.) and FORMAL (S.B.)

Immunization studies with living vaccine of Salmonella typhimurium (25909).

Proc. Soc. exper. Biol. Med. 1960, 104 (565-567).

- (37) BATSON (G.)

The relative significance of graded immunizing and challenge doses measuring the potency of vaccines. A study of mouse protection by typhoid vaccine.

J. Exper. Med. 1949, 90, (233).

- (38) BATSON (H.C.), LANDY (M.) and ABRAMS (A.)

Avirulent isolate of Salmonella typhosa 58 (Panama carrier).

Pub. Health. Rep. 1949, 64, (671-674).

- (39) BAYLON (H.) et BERNARD (J.G.)

Les néphropathies post-vaccinales.

Rev. Corps. Santé. Armées 1966, 7, (45-54).

- (40) BELL (C.), DRAY (S.)

Conversion of non immune rabbit spleen cells by ribonucleic acid of lymphoid cells from an immunized rabbit to produce IgG antibody of foreign light chain allotype.

J. Immunol., 1970, 105, (541-556).

- (58) BESSUDO (D.), OLARTE (J.), MENDOZA-HERNANDEZ (P.), CARRILLO (J.), GUTTIEREZ-TRUJILLO (G.), KUMATE (J.)
Aislamiento de Salmonella typhi resistance a oltas concentraciones de cloranfenicol.
Bol. Oficina sanit. panamer 1973, 74, (1).
- (59) BEUMER and PEIPER
Bakteriologische Studien über die ätiologischen Bedeutung der Typhus Bacillen.
Zeitschr. f. Hyg. 1886, 1, (489).
- (60) BHATNAGAR (S.S.)
Phagocytosis of B. typhosus in relation to its antigenic components and to the antibody components of the sensitizing serum.
Brit. J. exp. Path. 1935, 16, (375-384).
- (61) BHATNAGAR (S.S.), SPEECHLY (C.G.J.) and SINGH (M.)
Vi variant of Salmonella typhi and its application to serology of thyphoïd fever.
J. Hyg. 1938, 38, (663-672).
- (62) BIDEAU (J.), BERTHON (S.), VANDEKERKOVE (M.), NICOLI (J.)
Dissection de la couche superficielle de la paroi de Neisseria meningitidis en milieu alcalin.
Med. Trop. 1970, 30, (309-318).
- (63) BITTER (H.)
Über festigung von Versuchstieren gegen die Toxine der Typhusbacillen.
Ztschr. f. Hyg. u Infektionskrankh. 1892, 12, (298-304).
- (64) BOIDE et SIMONIN
Néphrite à la suite d'une vaccination triple.
Soc. Med. Mil Fr. 1937, 31, (656-658).
- (65) BOIVIN (A.), MESROBEANU (L.) et MESROBEANU (L.)
Technique pour la préparation des polysaccharides microbiens spécifiques.
C.R. Soc. Biol. 1933, 113, (490-492).

- (66) BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.)
Recherches sur les antigènes somatiques du bacille typhique.
Sur quelques propriétés biologiques comparées des antigènes O et Vi.
CR. Soc. Biol. 1938, 128 (9-11)
- (67) BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.)
Recherches sur les antigènes somatiques du bacille typhique. Sur l'action immunisante anti-endotoxique des deux complexes glucido lipidiques qui présentent les antigènes O et Vi du bacille d'Eberth.
C.R. Soc. Biol. 1938, 128, (835-837).
- (68) BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.)
Les antigènes somatiques et flagellaires des bactéries.
Ann. Inst. Pasteur 1938, 61, (426-478).
- (69) BONNEFOI (A.) et GRABAR (J.)
Valeur vaccinnante du TAB Pasteur.
Bull. Acad. Nat. Med. Séance du 22.02.1949.
- (70) BOSCO (G.)
Sulla possibilita di produrre vaccini per mezzo di vibrazioni ultrasonore -
Nota preventiva.
Ann. Ig. Ital. (1948), 58, (175).
- (71) BORGONO (J.M.), GREIBER (R.), BAGUENADO (F.), CAURILLO (B), CONCHA (F.)
e SOLANI (G.)
Vacunacion antitifica oral. Resultatos preliminar.
Rev. Méd. Chile 1972, 100, (1129).
- (72) BORGONO (J.M.), COREY (G.) and ENGELHARDT (H.).
Field trials with killed oral typhoïd vaccines.
Develop. Biol. Standard 1975, 33, (80).
- (73) BOUTTIER (M.) et CHAUVIN (R.)
Vaccination antitypho paratyphoïdique et azotémie.
Bull. et Mém. Soc. Med. Hop. Paris 1916, (2089).

- (74) BOYER (J.) et TISSIER (M.)
Sur la fréquence croissante de la fièvre typhoïde chez les vaccinés.
Presse Med. 1949, 36, (500-501.)
- (75) BOYER (J.)
Etude épidémiologique des infections typho-paratyphoïdiques chez les vaccinés en milieu civil.
Rev. Corps Santé Armées 1966, 7, (73-78).
- (76) BOYER (J.)
Précis de médecine préventive et d'hygiène.
Infection typho-paratyphoïdiques
Baillière Ed. 5e édition 1973 (379)
- (77) BRAUN (V.) and HANTKE (K.)
Biochemistry of bacterial cell envelopes.
Ann. Rev. Biochem., 1974, 43, (89- 121).
- (78) BROWN (J.O.), DUONGHONG (M.O.), RHOADES (E.R.)
Chloramphenicol-resistant Salmonella typhi in Saigon.
J. Amer. med. Ass. 1975, 231, (162).
- (79) BRIEGER (L.), KITASATO (S.) und WASSERMANN (A.)
Über Immunität und Giftfestigung.
Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1892, 12, (137-182).
- (80) BRIEGER (L.) und MAYER (M.)
Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien.
Deutsch. Med. Woch. 1903, 29, (309-310).
- (81) BRUSCHETTINI (A.)
Sulla immunità contro il tifo
Riforma medic 1892, 8, pt 3, (363-367).
- (82) BUSE (A.)
Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder
Ihren antigen - 4 mitt : Serum Antikörper der Maus nach spezifischer
Impfung gegen Salmonella enteritidis
Zbl.Bakt. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I Abt.Orig. 1967 204 (221).

- (83) CAMERON (C.M.) and FULS (W.J.P.)
A comparative study on the immunogenicity of live and inactivated Salmonella typhimurium vaccines in mice.
Onderstepoort J. Vet. Res. 1974, 41, (81).
- (84) CANTACUZENE (J.) et PANAITESCU (V.)
Essai de vaccination anti-typho-paratyphique par la voie sous cutanée et la voie buccale.
C.R. Soc. Biol. 1927, 97, (1217).
- (85) CAREY (W.F.) and BARON (L.S.)
Comparative immunologic studies of cell structures isolated from Salmonella typhi
Bacteriol. Proc. 1958, 1958, (74)
- (86) CARNOCHAN (F.G.) and CUMMING (C.N.W.)
Immunization against Salmonella infection in a breeding colony of mice.
J. Infect. Dis. 1952, 90, (242).
- (87) CASTEIGNE (P.), CAMBIER (J.), SCHULLER (G.)
Dosage des protéines totales et de certaines globulines du liquide céphalo-rachidien : application de l'analyse automatique aux techniques de fractionnement chimique I - Dosage des protéines totales du liquide céphalo-rachidien.
Rev. Franc. Etudes Clin. Biol., 1965, 10, (529-533)
- (88) CASTELLANI (R.)
Die Agglutination bei gemischter Infection und die Diagnose der Letzeren.
Zeitsch. für. Hyg. und Infect. Krankh. 1902, 11, (1).
- (89) CASTELLANI (R.)
Anti-typhoid vaccination with attenuated live cultures.
The Lancet 21 août 1909 (529).
- (90) CASTELLANI (R.)
Typhoid and paratyphoid vaccination with live attenuated vaccine ; mixed vaccines
The Lancet 1er Mars 1913 (595).

(91) CASTERMANS (A.)

Vaccination de la souris contre Salmonella typhimurium au moyen de suspensions bactériennes lysées par l'actinomycétine.

C.R. Soc. Biol., 1954, 148, (176).

(92) CHALIER (J.) et LEDRU (J.)

La typhoïde des vaccinés.

J. Med. Lyon 1939 (9).

(93) CHANTEMESSE et WIDAL

De l'immunité contre le virus de la fièvre typhoïde conférée par des substances solubles.

Ann. Inst. Pasteur 1888, 2, (54-59).

(94) CHANTEMESSE et WIDAL

Etude expérimentale sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique.

Ann. Inst. Past. 1892, 6, (755).

(95) CHU (D.C.Y.) and HOYT (R.E.)

Reactions of T.Vi. and ballerup Vi haptenes with antisera against Vi-coated erythrocytes.

J. Hyg., 1954, 52, (100-104).

(96) CHU (C.D.Y.), HOYT (R.E.), PICKETT (M.J.)

Immunization to Vi and O antigens of Salmonella typhi using a stable antigen in oil.

J. Hyg. 1956, 54, (592-596).

(97) CHU (D.C.Y.), HOYT (R.E.) and PICKETT (M.J.)

Solubility of Vi antigen of Salmonella typhi.

J. Hyg. 1956, 54, (585-591).

(98) CHUTTANI (C.S.), PRAKASH (K.), VERGESE (A.), STIARMA (U.) SINGHA (P.) and GHOSH RAY (B.)

effectiveness of oral killed typhoid vaccine.

Bull. Wld. Hith. Org. 1971, 45, (445).

- (99) CHUTTANI (C.S.), PRAKASH (K.), VERGESE (A.), GUPTA (P.), CHAWLA (R.K.)
GROWER (N.) and AGARWAL (D.S.)
Ineffectiveness of an oral killed typhoīd vaccine in a field trial.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1973, 48 (756)
- (100) CHUTTANI (C.S.)
Controlled field trials of three different oral killed typhoīd vaccines
in India.
Develop. Biol. Standard. 1975, 33, (98).
- (102) CIRODDE (M.)
Contribution à l'étude des propriétés bactériolytiques du sérum au cours
de la vaccination contre les salmonelloses.
Th. Méd. LYON 1963.
- (103) CITERNI (M.)
Ricerca delle agglutine anti-H e anti-O nel sero del sangue degli individue
sottoposti alla vaccinazione antitifica-paratifica per via orale.
Giorn. Batter. 1941, 26, (409).
- (104) CLARK (W.R.), Mac LAUGHLIN (J.) and WEBSTER (M.E.)
An aminohexuronic acid as the principal hydrolytic component of the Vi
antigen.
J. Biol. Chem. 1958, 230, (81-89).
- (105) CLIMIE (H.)
Immunization against typhoīd and paratyphoīd with alcohol killed ,
alcohol preserved and heatkilled phénol preserved vaccine.
J. Hyg. 1942, 42, (4111).
- (106) CLUFF (L.E.)
Effects of lipopolysaccharides (endotoxins) on susceptibility to infections.
in
"Bacterial endotoxins" KADIS (S.), WEINBAUM (G.), AJL (S.) edit. 1971, 5,
(399-413) (Academix Press-N.Y.).
- (107) CLUVER (E.)
Oral immunization against typhoīd in South Africa.
The Lancet 1929, 1, (1302).

(108) CNRS, colloques internationaux - N° 174.

La structure et les effets biologiques des produits bactériens provenant des germes gram-négatifs.

Editions du CNRS, PARIS 1969.

(109) COCKBURN (V.C.)

Large-scale field trials of active immunizing agents, with special reference to vaccination against Pertussis.

Bull. Org. Mond. Santé 1955, 13, (395-407).

(110) CODVELLE, PARAIRE et JACQUIER

Réflexions sur les accidents rénaux consécutifs à la vaccination triple.

Soc. Med. Mil. Fr. 1938, 32, (99-105).

(111) COLLINS (F.M.), MACKANESS (G.B.) and BLANDEN (R.V.)

Infection-immunity in experimental Salmonellosis.

J. Exp. Med. 1966, 124, (601).

(112) COLLINS (F.M.) and MILNE (M.)

Heat labile antigens of Salmonella enteritidis - I - Extraction of antigens.

J. Bacteriol., 1966, 92, (543-548).

(113) COLLINS (F.M.) and MILNE (M.)

Heat labile antigens of Salmonella enteritidis II - Mouse - protection studies.

J. Bacteriol., 1966, 92, (549-557).

(114) COLLINS (F.M.)

Cross protection against Salmonella enteritidis infection in mice.

J. Bacteriol. 1968, 95, (1343-1349).

(115) COLLINS (F.M.)

Recall of immunity in mice vaccinated with Salmonella enteritidis or Salmonella typhimurium.

J. Bacteriol. 1968, 95, (2014).

(116) COLLINS (F.M.) and CARTER (P.B.)

Comparative immunogenicity of heatkilled and living oral Salmonella vaccines.

Infect. Immun. 1972, 6, (451).

(117) COLLINS (F.M.)

Immunogenicity of living and heat killed Salmonella-pullorum vaccines.
Infect. Immun., 1973, 7, (735).

(118) COLOBERT (L.), CREACH (O.)

Structure de la paroi actoplasmique d'Eberthella typhi. Nature et localisation du substrat du lysozyme.
Ann. Inst. Pasteur. 1960, 99, (672-694).

(119) COLOBERT L. et KIRN A.

Les propriétés lytiques du sérum normal. II Obsistine et antigène Vi d'Eberthella typhi.
Ann. Inst. Pasteur 1961, 100, (159-165).

(120) COLOBERT L.

Peut-on améliorer les techniques actuelles de vaccination contre les Salmonelloses ?
Ann. Hyg. Lang. Fr. 1965, n° 2, (25-31).

(121) CORBEL (M.J.)

The immunogenic activity of ribosomal fractions derived from Brucella abortus.
J. Hyg., 1976, 76, (65-74).

(122) COSTEDOAT (M.)

Les accidents graves post-vaccinaux.
B. Mem. Soc. Med. Hop. PARIS 1947, 67, (214-224).

(123) COSTERTON (J.W.), INGRAM (J.M.) and CHENG (K.J.).

Structure and fonction of the cell enveloppe of gram-negative bacteria.
Bact. Rev. 1974, 38, (87-110).

(124) COURMONT (J.) et ROCHAIX (A.)

Immunisation antityphique de l'homme par voie intestinale (modifications spécifiques du sérum).
Journ. Physiol. et Pathol. Gén. 1912, 14, (349).

- (125) COURMONT (J.) et ROCHAIX (A.)
Immunisation contre l'infection Eberthienne expérimentale par voie intestinale chez le lapin.
Journ. Physiol. et Pathol. Gén., 1911, 13, (942).
- (126) COURTIEU (A.L.), DUBOEUF (C.), BOGENMANN (J.) MAKI (G.) et LONGERAY (C.)
Gastro-entérite à rechute par une Salmonella panama devenant résistante aux antibiotiques utilisés. Stérilisation par les bactériophages.
J. Med. LYON 1965, 46, (1481).
- (127) CREACH (O.)
Contribution à l'étude des propriétés biologiques de lipides constitutifs de l'endotoxine d'Eberthella typhi.
Thèse doct. Pharm. (état), LYON 1966, n° 26.
- (128) CREACH (O.), RICHARD (M.), PORTALIER (R.), FOURNIER (J.M.) et FONTANGES (R.)
Isolement et caractérisation d'un antigène vaccinant présent dans le surnageant de culture de Yersinia pestis (souche EV-40).
C.R. Acad. Sci., 1973, 276 D, (2919-2922).
- (129) CREACH (O.), IVANOFF (B.), BIEVENU (P.), DOMBRIS (A.) et FONTANGES (R.)
Etude de l'antigène vaccinant isolé à partir du surnageant de culture de Salmonella typhimurium.
C.R. Travaux Scientifiques CRSSA, 1976, 6, (160-162).
- (130) CRIMM (P.D.), SHORT (O.M.)
A study of oral typhoid vaccination as measured by blood serum agglutinins.
Amer. J. Med. Sci. 1938, 196, (826).
- (131) CRONLY-DILLON (S.)
Studies on infection and immunity in experimental mouse typhoid.
M. Sc. Thesis. University of Edinburgh. 1967
- (132) CRONLY-DILLON (S.)
The relative potencies of heat-killed and acetone-killed vaccines against Salmonella-typhimurium in mice.
J. Hyg. 1972, 70 (597-603).

- (133) CRONLY-DILLON (S.)
Comparative efficacy of whole and desintegrated killed vaccines against Salmonella typhimurium in mice.
J. Med. Microbiol. 1972, 5, (183-189).
- (134) CUNNINGHAM (D.G.), ANTHONY (P.K.), RUFF (W.J.)
Infectivity of Salmonella typhi after 56 years of carrier state.
J. Pediatr. 1975, 87, (147).
- (135) CVJETANOVIC (B.)
Field trial on typhoid vaccines.
Amer J. Publ. Health 1957, 47, (578).
- (136) CVJETANOVIC (B.)
Controlled field trials of prophylactics (with special reference to typhoid vaccines).
J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 1961, 5, (7).
- (137) CVJETANOVIC (B.) and UEMURA (K.)
The present status of field and laboratory studies of typhoid and para-typhoid vacciner.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1965, 32, (29).
- (138) CVJETANOVIC (B.), MEL (D.M.) and FELSENFELD (D.)
Study of live typhoid vaccine in chimpanzees.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1970, 42, (499).
- (139) DATTA (N.)
Transmissible drug resistance in an epidemic strain of Salmonella typhimurium.
J. Hyg. 1962, 60, (301).
- (140) DAVIES (R.), KOTLARSKI (J.)
The effect of immunization with a rough strain of Salmonella enteritidis on the fate of Salmonella typhimurium in mice.
Austral. J. exper. Biol. med. Sci. 1974, 52, (779).

(141) DE BARBIERI (A.)

Gli antigeni Vi ed O della S. Typhi. Sintesi di ricerche immunochimiche.
Boll. Ist. sieroterap. Milan. 1956, 35, (550).

(142) DE BARBIERI (A.), SCEVOLA (M.E.), BENZONI (G.) CEPPELLINI (R.)

Preparazione e proprietà chimiche e immunologiche dell'antigene Vi purificato.

Boll. Ist. sieroterap. Milan. 1956, 35, (561).

(143) DE BARBIERI (A.), SCEVOLA (M.E.), BENZONI (G.)

Isolation of endotoxins from Salmonella paratyphi A and B : their protective activity against the specific experimental infection.

Boll. Ist. sieroterap Milan. 1957, 36, (447).

(144) DE BARBIERI (A.), TASSI (C.G.) CROVARI (P.) and CHIAPPINO (G.)

Research on the oral antityphoid immunization in mice and its mechanism of action.

Progr. Immunobiol. Stand. 1970, 4, (386).

(145) DE ROBERTIS (E.) and FRANCHI (C.H.)

Electron microscopic observation on the fine structure of bacterial flagella.

Exp. Cell. Res. 1951, 2, (295).

(146) DENCHEV (V.), TRIFONOVA (A.), JELEVA (M.), DUNCHEVA (S.), BRAJANOVA (J.), DINITROVA (Z) and KOVACHEV (P.)

Immunity against dysentery after enteral immunization with live vaccine.

Acta microbiol. Acad. Sci. hung. 1974, 21, (71-74).

(147) DESTOUCHES (L.F.)

Deux expériences de vaccination en masse et "per os" contre la typhoïde.

Presse Med. 1929, 73, (1193).

(148) Di CAVALLERLEONE (L.F.)

La vaccinazione antitifica praticata nell'esercito italiano durante la campagna italo-turca.

Tr. Internat. Cong. Med. 1913, Lond., 1914, Sect. 20, Nav. and Milit Med, pt 2, (69-74).

- (149) DIENA (B.B.), BARON (L.S.), JOHNSON (E.M.), WALLACE (R.) and ASHTON (F.E.)
Role of typhoid antigens in protection and pathogenicity for mice.
Infect. Immun. 1974, 9, (1102-1104).
- (150) DIENA (B.B.), RYAN (A.), WALLACE (R.) ASHTON (F.E.), JOHNSON (E.M.), BARON (L.S.)
Ineffectiveness of Vi and chemically treated endotoxins as typhoid vaccines in mice challenged with a Salmonella typhosa - Salmonella typhimurium hybrid.
Infect and Immun. 1975, 12, (1470-1471).
- (151) DIENA (B.B.), RYAN (A.), WALLACE (R.), JOHNSON (E.M.), BARON (L.S.) and ASHTON (F.E.)
Effectiveness of Parenteral and Oral Typhoid Vaccination in mice challenged with a Salmonella typhi - Salmonella typhimurium hybrid.
Infect. Immun. 1977, 15, (997-998).
- (152) DISDIER (I.)
Détermination des paramètres pouvant intervenir dans la conservation de la souche Ev lyophilisée (vaccin antipesteux vivant de Girard et Robic).
Th. Doct. Sc. univ. LYON 1974.
- (153) DLUGAE (L.)
Versuche einer Immunisierung per os gegen Typhus.
Z. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1930, 7, (279).
- (154) DOMINGUE (G.J.), SALHI (A.), ROUNTREE (C.) and LITTLE (W.)
Prevention of experimental hematogenous and retrograde pyelonephritis by antibodies against enterobacterial common antigen.
Infect. Immun. 1970, 2, (175-182).
- (155) DOMINGUE (G.) and JOHNSON (E.)
Isolation of subcellular fractions containing immunogenic enterobacterial common antigen.
Z. Immunitätsforsch. 1974, 148, (23-38).
- (156) DOMINGO (P.)
Über Typhus Immunisierung durch perorale Verabreichung.
Z. f. Hygiene 1933, 28, (364).

- (157) DOWNS (C.M.) and BOND (G.C.)
Occurrence of O and H agglutinins following subcutaneous and oral administration of typhoid vaccine.
Amer. J. Publ. Hlth. sept. 1937.
- (158) DUFRENOY (J.)
L'épidémie de fièvre typhoïde de Zermatt (1963).
Rev. Pathol. comp. 1969, 69, (57).
- (159) DUPONT (H.L.), HORNICK (R.B.), SNYDER (M.J.), DAWKINS (A.T.), HEINER (G.G.) and WOODWARD (T.E.)
Studies of immunity in typhoid fever. Protection induced by killed oral antigens or by primary infection.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1971, 44, (667).
- (160) EBEDO (L.), NORMANN (B.)
Virulence and immunogenicity of mutant strains of Salmonella typhimurium.
Acta pathol. microbiol. scand. 1970, 78, (75).
- (161) EBERTH
Die Organismen in der Organen bei typhus abdominalis.
Virchow's Archiv. 1880, 31.
- (162) EDSALL (G.), CARLSON (M.C.), FORMAL (S.B.) and BENENSON (A.S.)
Laboratory tests of typhoid vaccines used in a controlled field study.
Bull. Org. Mond. Santé 1959, 20, (1017).
- (163) EISENSTEIN (T.K.)
Evidence for O antigens as the antigenic determinant in "Ribosomal" vaccines prepared from Salmonella.
Infect. Immun. 1975, 12, (364-377).
- (164) ELKINA (S.I.), SERGEEV (V.V.), SHUSTER (B.J.U.), LIKHODED (V.G.)
Propriétés virulentes et immunogènes du mutant streptomycino et guanidino-dépendant de S. typhimurium (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1971, 48, N° 1, (10).

- (165) ENOMOTO (M.) and IINO (T.)
Chromatography and electrophoresis of flagellin of Salmonella abortus equi.
Ann. Rep. Nat. Inst. Genet 1962, 13, (76).
- (166) FELIX (A.) and OLITZKI (L.)
The qualitative receptor analysis. II Bactericidal serum action and qualitative receptor analysis.
J. Immunol. 1926, 11, (31-80).
- (167) FELIX (A.) and PITT (R.M.)
Virulence of B. typhosus and resistance to O antibody.
J. Path and Bact. 1934, 38, (409-420).
- (168) FELIX (A.) and PITT (R.M.)
A new antigen of B. typhosus. Its relation to virulence and to active and passive immunization.
Lancet 1934, 2, (186-191).
- (169) FELIX (A.), KRIKORIAN (K.S.) and REITLER (R.)
Occurrence of typhoid bacilli containing Vi antigen in cases of typhoid fever.
J. Hyg. 1935, 35, (421-427).
- (170) FELIX (A.) and PITT (R.M.)
The pathogenic and immunogenic activities of Salmonella Typhi in relation of its antigenic constituents.
J. Hyg. 1951, 49, (92).
- (171) FELIX (A.)
The preparation, testing and standardization of typhoid vaccine.
J. Hyg. 1951, 49, (268).
- (172) FELIX (A.) and ANDERSON (E.S.)
Bacteriophage, virulence and agglutination tests with a strain of Salmonella typhi of low virulence.
J. Hyg. 1951, 49, (349-364).

(173) FELIX (A.)

The properties of different Salmonella Vi antigens

J. Hyg. 1952, 50, (515-539).

The Vi antigen of Salmonella paratyphi A

ibid°, 540-549

The Vi antigen of Salmonella paratyphi B

ibid°, 550-557.

The serological classification of bacteriaceae

ibid° 558-579.

(174) FERRABOUC (L.) et BERNARD (J.G.)

A propos d'une épidémie de fièvre typhoïde chez les vaccinés.

Bull. Mem. Soc. Med. Hop. PARIS 1956, 21, (639-641).

(175) FICHERA (G.)

Azione immunizante della endotossina glucidolipidica della S. typhimurium nell'infezione omologa sperimentale per os del topolino.

Riv. Ist. sieroterap. ital. 1958, 33, (360).

(176) FONTANGES (R.)

Etude de l'influence de plusieurs paramètres dans la conservation par lyophilisation de Yersinia pestis (souche EV).

Vie Cours International de lyophilisation et de Technologie Alimentaire moderne. Lucerne (Suisse) 1973 .

(177) FONTANGES (R.), IVANOFF (B.) and CREACH (O.)

Compared efficiency of a killed vaccine of Salmonella typhimurium,

a live vaccine and an antigenic fraction in oral immunization of mice.

Progr. Immunobiol. Stand. 1976, 33, (118-123).

(178) FOURNIER (J.M.), CREACH (O.), CHABOUD (J.J.), DODIN (A.) et FONTANGES (R.)

Etude sur la souris du pouvoir protecteur de la souche EV de Yersinia pestis et de son surnageant de culture.

C.R. Acad. Sci., 1972, 275 D, (3057-3059).

- (179) FOURNIER (J.M.), PAUL (G.), CHOMEL (J.J.), DODIN (A.) et FONTANGES (R.)
Etude expérimentale de la vaccination par voie sous-cutanée et par
aérosols contre la peste chez le singe cynocéphale. Absence de relation
entre les anticorps hémagglutinants et précipitants et la protection.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 1973, 124 B, (315-328).
- (180) FRENTZ (G.) and DOMINGUE (G.)
Effects of immunization with ethanol-soluble enterobacterial common anti-
gen against in vivo bacterial clearance and hematogenous pyelonephritis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1973, 142, (246-252).
- (181) FRIEDBERGER (E.) et MORESCHI (C.)
Vergleichende Untersuchungen über die aktive Immunisierung von
Kaninchen gegen Cholera und Typhus.
Zentralbl. f. Bakteriologie. Parasitenkunde. 1. Abt. Orig. 1905, 39, (453-473).
- (182) FROTTIER (J.)
Faut-il encore vacciner contre la fièvre typhoïde ?
Vie Méd. 1974, 55, (1920).
- (183) FURNESS (G.) and ROWLEY (D.)
Transduction of virulence within the species Salmonella typhimurium.
J. Gen. Microbiol. 1956, 15, (140).
- (184) GABRIELLI (G.), MORGANTETTI (F.)
Il problema del controllo dei vaccini antitifici. IV Studio sperimentale
del valore immunogeno di vaccini antitifici allestiti con metodi
diversi.
Riv. Ist. sieroterap.ital. 1960, 35, (498).
- (185) GABRITSCHESKY
Über die Frage der Vaccination der Tiere und des Menschen durch den
Digestionstraktus gegen Cholera, Abdominaltyphus und Dysenterie.
Zbl. f. Bakt. Parasitenkd. Infektionskr. I. Abt. Orig. 1905, 36, (24).
- (186) GAINES (S.), CURRIE (J.A.), TULLY (J.G.)
Production of incomplete Vi antibody in mice.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 1960, 104, (602-605).

- (187) GAINES (S.), LANDY (M.), EDSALL (G.), MANDEL (A.D.), TRAPANI (R.J.)
BENENSON (A.S.)
Studies on infection and immunity in experimental typhoid fever.
III Effectif of prophylactic immunization.
J. Exper. Med. 1961, 114, (327).
- (188) GAINES (S.), CURRIE (J.A.), TULLY (J.G.)
Détection and persistence of Vi antigen in tissues of actively immunized mice.
J. Bacteriol. 1965, 89, (776).
- (189) GALANOS (C.), LUDERITZ (O.) and WESTPHAL (O.)
A new method for the extraction of R - lipopolysaccharides.
Eur. J. Biochem., 1969, 9, (245-249).
- (190) GARD (S.)
Preparation of bacterial flagellae.
Ark. Kemi Mineral. Geol. 1945 A, 19, (1).
- (191) GAUTHIER (A.)
Essais de vaccination par la voie orale contre la fièvre typhoïde.
Bull. Acad. Nat. de Med. 1924, 91, (486).
- (192) GERBER (B.R.) and NOGUCHI (H.)
Volume change associated with the G-F transformation of flagellin.
J. Mol. Biol. 1967, 26, (197).
- (193) GERMANIER (R.)
Immunity in experimental Salmonellosis I - Protection induced by rough mutants of Salmonella typhimurium.
Infect. Immun. 1970, 2, (309-315).
- (194) GERMANIER (R.) and FURER (E.)
Immunity in experimental salmonellosis. II - Basis for the avirulence and protective capacity of gal. E mutants of Salmonella typhimurium.
Infect. Immun. 1971, 4, (663-673).

- (195) GERMANIER (R.) and FURER (E.)
Accelerated elimination of Salmonella typhi Ty 2 from mice vaccinated with an "expimeraseless" mutant of this strain.
Symp. Ser. Immunobiol. Standard 1971, 15 (87-90).
- (196) GERMANIER (R.)
Immunity in experimental salmonellosis. III Comparative immunization with viable and heat inactivated cells of Salmonella typhimurium.
Infect. Immun. 1972, 5, (792-797).
- (197) GERMANIER (R.)
Vaccination against typhoid fever with a live oral vaccine.
Develop. biol. Standard 1975, 33, (85).
- (198) GERNEZ-RIEUX (C.) et GERVOIS (M.)
Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, in "Elements de médecine préventive, santé publique et hygiène", p. 179.
Flammarion Ed. 3e édition 1971.
- (199) GLASER (L.)
Bacterial cell surface polysaccharides.
Ann. Rev. Biochem., 1973, 42, (91-112).
- (200) GOEBEL W.F., BINKLEY F. and PERLMAN E.
Studies on the flexner group of dysentery bacilli. I The specific antigens of Shigella paradysenteriae.
J. Exp. Med. 1945, 81, (315-330).
- (201) GONZALES-CORTES (A.), BESSUDO (M.D.), SANCHEZ-LEYVA (R.), FRAGOSO (R.), KINOJOSA (M.), BECERRIL (P.)
Transmission de Salmonella Typhi resistente al cloranfenicol a través de agua. Un brote comunitario en Mexico.
Rev. Invest. Sal. publica. 1973, 33, N° 3, (99).
- (202) GONZALEZ CORTES (A.), HERRERA PINEDA (P.), BESSUDO (D.), BECERRIL (P.), BARRAGAN (B.).
Epidemia de Salmonella typhi cloranfenicol-resistente.
Un factor cultural participante en una localidad mexicana.
Rev. Invest. Sal. publica. 1975, 35, 67.

- (203) GORZYNSKI (E.A.), WHANG (H.Y.), SUZUKI (T.) and NETER (E.)
Differences in antibody response of rabbit to common enterobacterial antigen.
after intravenous and subcutaneous injection with adjuvant.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1963, 114, (700-704).
- (204) GORZYNSKI (E.A.), AMBRUS (J.L.) and NETER (E.)
Effect of common enterobacterial antiserum on experimental Salmonella typhimurium infection of mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1971, 137, (1209-1212)
- (205) GORZYNSKI (E.A.), PRIORE (R.L.) and NETER (E.)
Effect of immunization with common enterobacterial antigen on experimental Salmonella typhimurium infection of mice.
Immun. Commun. 1972, 1, (123-130).
- (206) GORZYNSKI (E.A.) and KRASNY (S.A.)
Effect of erythrocytes treated with enterobacterial common antigen on
experimental Salmonella typhimurium infection of mice.
Med. Microbiol. Immuno. 1975, 161, (163-170).
- (207) GOWEN (J.W.), STADLER (J.)
Specificity of vaccine conferred resistance to Salmonella typhimurium
in mice.
J. Infect. Dis. 1967, 117, (151)
- (208) GRAHNEIS (H.)
Effectiveness of oral inactivated typhoid vaccine.
Acta microbiol. Acad. Sci. Hung. 1974, 21, (75).
- (209) GRASSET (E.)
Vaccination, hyperimmunisation et sérothérapie antityphoïdique expérimentale
au moyen d'autolysats formolés.
C.R. Soc. Biol. 1927, 97, (1211).
- (210) GRASSET (E.)
La vaccination antityphoïdique par l'endoanatoxine typhique.
Presse Med. 1927, 95-96, (1653).

- (211) GRASSET (E.) et GORY (M.)
Sur l'immunisation antityphique du cobaye. Propriétés du sérum des animaux immunisés.
C.R. Soc. Biol. 1927, 1, (180-182).
- (212) GRASSET (E.)
L'endoanatoxine typhique et ses applications dans la vaccination antityphique.
1er Congrès des Microbiologistes de langue française - 1938.
- (213) GRASSET (E.)
L'endoanatoxine typho-paratyphique dans la prophylaxie et le traitement des infections typhoïdiques.
Rev. Immunol. 1951, 15, (1).
- (214) GRINNEL (F.B.)
A study of the dissociation of the rawlins strain of Bacterium typhosum with special reference to its use in the production of anti-typhoid vaccine.
J. Exp. Med. 1932, 56, (907-918).
- (215) GUARNACCI (M.)
Vaccinazione antitifico-paratificaper via orale e agglutine.
Giorno Batter. 1939, 23, (352)
- (216) GUENTZEL (M.N.), BERRY (L.J.).
Protection of suckling mice from experimental cholera by maternal immunisation : comparison of the efficacy of whole cell, ribosomal derived and enterotoxin immunogens.
Infect. Immun., 1974, 10, (167-172).
- (217) GUERNER (N.)
Essai comparatif de vaccination par la voie sous cutanée et par la voie orale au moyen du vaccin bilié.
C.R. Soc. Biol. 1927, 96, (330).

- (218) HAHN (M)
Immunisierungs - und Heilversuche mit den plasmatischen Zellsäften von
Bakterien.
Sitzungsb. d. Gesellsch. f. Morph. U. Physiol. In München 1898, 13, (77-88).
- (219) HAMMARSTROM (S.), CARLSSON (H.E.), PERLMANN (P.) and SVENSSON (S.)
Immunochemistry of the common antigen of enterobacteriaceae.
J. Exp. Med. 1971, 134, (565-576).
- (220) HARVIER
Accidents de chocs mortels après vaccination antityphoparatyphique.
Bull. Acad. Nat. Méd. 1940 (711).
- (221) HASHIMOTO (H.), HONDA (T.) KAWAKAMI (M.), MITSUHASHI (S.)
Studies on the experimental Salmonellosis. VI Longlasting immunity of mouse
immunized with live vaccine of Salmonella enteritidis.
Jap. J. Exper. Med. 1961, 31, (187).
- (222) HATUNCHEVA (N.V.), MIRONOVA (M.V.), RYAPOLOVA (R.G.)
Immunochemical examination of typhoid and paratyphoid vaccines prepared
from envelope and O antigens.
Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 1974, 21, (135-141).
- (223) HEJFEC (L.B.)
Results of the study of typhoid vaccines in four controlled fields
trials in the URSS.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1965, 32, (1).
- (224) HEJFEC (L.B.), LEVINA (L.A.), SALMIN (L.B.), ANTONOVA (A.A.), SEGAL (L.S.)
KURZMINOVA (H.L.), SLAVINA (Kh M.) and VASILEVA (A.V.).
Controlled field trials of killed oral typhoid and paratyphoid B vaccines
and cell-free, chemical aerosol typhoid vaccine.
Developp. Biol. Standard 1975, 33, (93).
- (225) HENDERSON (D.W.) and MORGAN (W.T.J.)
The isolation of antigenic substances from strains of Bact. typhosum.
Brit. J. Exper. Path. 1938, 19, (82-94).

- (226) HENON (M.), DELAUNAY (A.) et BASIN (S.)
Réactions métaboliques provoquées in vivo et in vitro par les endotoxines bactériennes.
Biologie Médicale, 1968, 6, (471-519).
- (227) HENRI
Néphrite vaccinale.
Soc. Med. Mil. Fr. 1934, 28, (272-278).
- (228) HERZBERG (M.)
Living organisms as immunizing agents against experimental salmonellosis in mice. I Virulence of auxotrophic mutants.
J. Infect. Dis. 1962, 111, (192).
- (229) HERZBERG (M.), NASH (P.), HINO (S.)
Degree of immunity induced by killed vaccines to experimental Salmonellosis in mice.
Infect. Immun. 1972, 5, (83).
- (230) MINSHAW (L.B.)
Release of vasoactive agents and the vascular effects of endotoxin, in "Bacterial endotoxins", KADIS (S.) WEINBAUM (G.), AJL (S.) édit. 1971, 5, (209-275) (Academic Press N.Y.).
- (231) (232) HOBSON (D.)
Resistance to réinfection in experimental mouse typhoïde.
J. Hyg. 1957, 55, (334).
- (233) HOFFSTADT (R.E.), THOMPSON (R.L.), MARTIN (K.)
Immunological studies of typhoïd vaccination by mouth.
Amer. J. Hyg. 1929, 9, (1-46).
- (234) HOOK (E.W.), WAGNER (R.R.)
The resistance-promoting activity of endotoxins and other microbial products.
I their effect on Salmonella typhosa infections in mice.
J. Immunol. 1959, 83, (302).

- (235) HOOPS (P.), PRATHER (N.E.), BERRY (L.J.), RAVEL (J.M.)
Evidence for an extrinsic immunogen in effective ribosomal vaccines
from Salmonella typhimurium.
Infect. Immun. 1976, 13, (1184).
- (236) HORNICK (R.B.), GREISHANN (S.E.), WOODWARD (T.E.), DUPONT (H.L.),
DAWKINS (A.T.) and SNYDER (M.J.)
Typhoid fever - pathogenesis and immunologic control.
New. Engl. J. Med. 1970, 283, (686 et 739).
- (237) HORNICK (R.B.), DUPONT (H.L.), DAWKINS (A.T.), SNYDER (M.J.) and
WOODWARD (T.E.)
Evaluation of typhoid vaccines in man.
Progr. Immunobiol. Standard 1971, 15, (143-150).
- (238) HORNICK (R.B.), DUPONT (H.L.), LEVINE (M.M.), GILMAN (R.H.), WOODWARD (W.E.),
SNYDER (M.J.) and WOODWARD (T.E.)
Efficacy of a live oral typhoid vaccine in human volunteers.
Develop. biol. Standard. 1975, 33, (89).
- (239) HOUCHEMS (D.P.), WRIGHT (G.I.JR)
Immunity to Salmonella typhimurium infection: characterization of antigens
in active protection by polyacrylamide gel electrophoresis.
Infect. Immun. 1973, 7, (507-511).
- (240) HOWARD (J.G.), ROWLEY (D.) and WARDLAW (A.C.)
Stimulation of non specific immunity by the lipid A component of bacterial
lipopolysaccharide.
Nature, 1957, 179, (314-315).
- (241) HSU (H.S.), MAYO (D.R.)
Interactions between macrophages of guinea-pigs and Salmonellae. III
Bactericidal action and cytophilic antibodies of macrophages of infected
guinea-pigs.
Infect. Immun., 1973, 8, (165-172).
- (242) IINO (T.)
Genetics and chemistry of bacterial flagella.
Bact. Rev. 1969, 33, (454).

- (243) IVANOFF (B.), CREACH (O.) et FONTANGES R.
Variation de l'immunité intestinale après vaccination par voie orale.
I Mise au point d'un protocole de vaccination par une bactérie pathogène tuée.
C.R. Travaux Scientifiques CRSSA 1973, Art. B 38, (95).
- (244) IVANOFF (B.), CREACH (O.), DELORME (P.), LAVAL (F.) et FONTANGES (R.)
Mise en évidence d'un antigène vaccinant dans le surnageant de culture de Salmonella typhimurium (souche M-206)
C.R. Travaux Scientifiques CRSSA, 1974, 4, (144-145).
- (245) IVANOFF (B.), CREACH (O.) et FONTANGES (R.).
Etude de la protection de la souris après vaccination par voie orale à l'aide d'une souche pathogène tuée de Salmonella typhimurium.
C.R. Soc. Biol. 1974, 168, (541-545).
- (246) IVANOFF (B.), CREACH (O.), DELORME (P.), LAVAL (F.) et FONTANGES (R.)
Mise en évidence d'un antigène vaccinant dans le surnageant de culture de Salmonella typhimurium (souche M.206).
C.R. Acad. Sc. PARIS, série D., 1975, 280, (791-793).
- (247) IVANOFF (B.), LAVAL (F.), CREACH (O.) et FONTANGES (R.)
Etude de la protection de la souris après vaccination par voie orale à l'aide d'une souche avirulente vivante de Salmonella typhimurium.
C.R. Soc. Biol. 1975, 169, (350-354.)
- (248) IVANOFF (B.), CREACH (O.) et FONTANGES (R.)
Aspect actuel de la vaccination par voie orale contre les entérobactéries.
Technologie et résultats.
Lyon Pharmaceutique 1975, 26, (243-254).
- (249) IVANOFF (B.)
Evolution des immunoglobulines intestinales et sériques de la souris au cours de la vaccination par voie orale.
Thèse de doctorat d'Etat en Pharmacie LYON 1976.

- (250) IVANOFF B., LAVAL F., CREACH O. et FONTANGES R.
Evolution des immunoglobulines intestinales et sériques de la souris
après vaccination par voie orale.
C.R. Soc. Biol. 1977, 171 n° 2, (380).
- (251) JANDL (G.)
Herstellung und Wirksamkeit eines durch Milchsäure abgetöteten
Typhus-Impstoffes.
Z. Hyg. Infekt. - Krankh. 1961, 147, (539).
- (252) JARVIS (F.G.), MESENKO (M.T.) and KYLE (J.E.)
Electrophoretic purification of the Vi antigen.
J. Bacteriol. 1960, 80, (677-681).
- (253) JENSEN (P.), GREGORY (B.), NAYLOR (J.), ACTOP (P.)
Isolation of protective somatic antigen from Vibrio cholerae (ogawa)
ribosomal preparations.
Infect. Immun., 1972, 6, (156-161).
- (254) JENKIN (C.R.), ROWLEY (D.), AUZINS (I.)
The basis for immunity to mouse typhoid.
Austral. J. Exper. Biol. Med. Sci. 1964, 42, (215).
- (255) JENKIN (C.R.) and ROWLEY (D.)
Partial purification of the "protective" antigen of Salmonella typhimurium
and its distribution among various strains of bacteria.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1965, 43, (65-78).
- (256) JOHNS (M.A.), WHITESIDE (P.E.), BAKER (E.E.) and Mc CABE (W.R.).
Common enterobacterial antigen - I - Isolation and purification from
Salmonella typhosa O : 901
J. Immunol. 1973, 110, (781-790).
- (257) JOHNSON (A.G.)
Adjuvant action of bacterial endotoxins on the primary antibody response.
in "Bacterial endotoxins" LANDY (M.), BRAUN (W.) édit. 1964, (252-262)
Rutgers state university (N.J.).

(258) JOHNSON (W.)

Ribosomal vaccines - I - Immunogenicity of ribosomal fractions isolated from Salmonella typhimurium and Yersinia-pestis.
Infect. Immun., 1972, 5, (947-952).

(259) JOHNSON (W.)

Ribosomal vaccines : II Specificity of the immune response to ribosomal ribonucleic acid and protein isolated from Salmonella typhimurium.
Infect. Immun. 1973, 8, (395-399).

(250) JOOS (A.)

Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums.
Centralbl. f. Bakt. I Abt. Orig. 1903, 33 (762-783).

(261) JOYS (T.M.)

The structure of the flagella and the genetic control of flagellation in eubacteriale - A (review).
Loeuwenkoek ned. Tijdschr. 1968, 34, (205-225).

(262) JUDE (A.)

L'antigène Vi.
Biol. Med. 1950, 39, (318).

(263) JUDE (A.) et NICOLLE (P.)

Etude de la résistance du bacille typhique aux processus de défense de la souris artificiellement infectée. Importance de la constitution antigénique du germe d'épreuve.
Rev. Immunol. 1956, 20, (1-18).

(264) KABAT (E.A.), BEZER (A.E.)

The effect of variation in molecular weight on the antigenicity of dextrans in man.
Arch. Biochem. Biophys. 1958, 78, (306-318).

(265) KABESHIMA

Über Typhus - und Paratyphusschutzimpfungen - Mittels gemischter Typhus und Paratyphus - vaccine und die Ergebnisse der Schutzimpfung in der kaiserlich Japanischen Marine.
Zentralbl. f. Bakt. Parasit. I Abt. Orig. 1914, 74, (294-302).

- (266) KAROLCEK (J.), RUSINKO (M.), DRASKOVICOVA (M.), MITULKOVA (M.),
BACTCEROUVA (L.), LUZOVA (D.)
Allgemeine Immunitäts Reaktionen bei Menschen nach oraler Anwendung
von einem typhus - Enteroimpfung.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 1965, 198, (225).
- (267) KASS (E.H.), WOLFF (S.M.) editors
Bacterial Lipopolysaccharides.
The University of Chicago Press 1973.
- (268) KAUFFMANN (F.)
Über einen neuen serologischen Formenwechsel der Typhusbacillen.
Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1935, 116, (617-651).
- (268 b) KAUFFMANN F.
Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe.
Copenhagen 1940.
- (269) KAUFFMANN (F.)
Enterobacteriaceae.
2e ed. 1954 Kbhvn E. Murksgaard p. 48.
- (270) KAWAKAMI (M.), OSAWA (N.) and MITSUHASHI (S.)
Experimental salmonellosis - VII - Comparison of the immunizing effect
of live vaccine and materials extracted from Salmonella typhimurium.
J. Bacteriol., 1966, 92, (1585).
- (271) KAWAKAMI (M.)
Immunizing effect of the live vaccine and the surface materials obtained
from various mutants of Salmonella.
In colloque intern. CNRS n° 174 "La structure et les effets biologiques
des produits bactériens provenant des germes gram-négatifs".
CNRS édit. 1969, (255-268).
- (272) KANAI (K.), YOUNG (G.P.)
Immunogenicity of intracellular particles and cell-walls from
Mycobacterium tuberculosis.
J. Bacteriol., 1960, 80, (607-614).

- (273) KEELER (R.F.), RITCHIE (A.E.), BRYNER (J.H.) and ELMORE (J.)
The preparation and characterization of cell walls and preparation of flagella of Vibrio fetus.
J. Gen. Microbiol. 1966, 43, (439).
- (274) KENNY (K.), HERZBERG (M.)
Antibody response and protection induced by immunization with smooth and rough strains in experimental salmonellosis.
J. Bacteriol. 1968, 95, (406).
- (275) KERRIDGE (D.), HORNE (R.W.), GLAUERT (A.M.)
Structural components of flagella from Salmonella typhimurium.
J. mol. Biol. 1962, 4, (227).
- (276) KESSEL (R.W.I.), NETER (E.) and BRAUN (W.)
Biological activities of the common antigen of enterobacteriaceae.
J. Bacteriol. 1966, 91, (465-466).
- (277) KHASANOV (M.I.), KHEIFETS (L.B.) and SALMIN (L.V.)
A controlled field trial on the typhoid component of polyvalent enteric vaccine (NIISI Polyvaccine).
Bull. Wld. Hlth. Org. 1962, 26, (371-379).
- (278) KHEIFETS (L.B.), LEVINA (L.A.), BENTSIONOVA (T.G.), SALMIN (L.V.).
Activité protectrice de différents complexes antigéniques des vaccins antityphoïdiques et recherches sur l'amélioration des vaccins chimiques (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., 1970, 47, N° 5, (89).
- (279) KINNE-SAFFRAN (E.), KURSCHILGEN (E.M.), MARQUARDSEN (A.) und RAETTIG (H.)
Orale Immunisierung mit Nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 9 Mitt : Tierversuche zur Schutzimpfung gegen Infektionen durch Enteritis Erregende Salmonellen.
Zbl. Bakt. Parasit. Infektionskr. I Abt. Orig. 1968, 208, (37).

- (280) KNIVETT (V.A.), STEVENS (W.K.)
The evaluation of a live salmonella vaccine in mice and chickens.
J. Hyg. 1971, 69, (233)
- (281) KOBAYASHI (R.) and USHIBA (D.)
Studies on the immunity of the experimental typhoid. I. A review of
experiments carried out in our laboratory during the past twenty years.
Keio. J. Med. 1952, 1, (35).
- (282) KOBAYASHI (T.), RINKER (J.N.), KOFFLER (H.)
Purification and chemical properties of flagellin.
Arch. Biochem. Biophys. 1959, 84, (342).
- (283) KOCIOK (J.)
Wirkungsprüfung von Oralimpfstoffen aus inaktivierten ~~Typhusbakterien~~.
im aktiven Mäuseschutztest.
Dissertation - Berlin 1971.
- (284) KOFFLER (H.), MALLET (G.E.) and ADYE (J.)
Molecular basis of biological stability to high temperature.
Proc. Nat. Acad. Sci. 1957, 43, (464).
- (285) KOFFLER (H.) and KOBAYASHI (T.)
Purification of flagella and flagellin with ammonium sulfate.
Arch. Biochem. Biophys. 1957, 67, (246).
- (286) KOHLER (H.)
Immunisierungsvermögen von Salmonellimpfstoffen in Mäusetest.
Schweiz. Z. allg. Pathol. Bakteriologie. 1953, 16, (796).
- (287) KOLOBOVA (L.F.), PERSHIN (B.B.)
Le rôle des antigènes O et Vi dans la formation de l'immunité antityphique
(en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1970, 47, N° 12, (97).
- (288) KOROBKOWA (E.), SERISORINA (S.) et BAJUROVA (A.)
Die perorale Vaccination gegen Abdominaltyphus.
Cbl. f. Hyg. 1933, 29, (526.)

- (289) KOSMODEMIANSKY (W.N.)
Infection paratyphoïdique B expérimentale.
C.R. Soc. Biol. 1928, 99, (1708).
- (290) KORTE (W.)
Ein Beitrag zur Kenntniss des Paratyphus
Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. 1903, 44, (243-272).
- (291) KOVALEVA (N.I.), MIRONOVA (M.V.), KHATUNCEVA (N.V.)
Justification expérimentale des problèmes posés par la vaccination par voie entérale - II - L'efficacité des vaccins antityphoïdiques préparés à partir des antigènes Vi et O par voie entérale (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1969, 46, N° 6, (9).
- (292) KUMAJAI (K.)
De la vaccination antityphique par la voie buccale au moyen de vaccin bilié, d'après le procédé de Besredka.
C.R. Soc. Biol. 1931, 108, (373).
- (293) KUNIN (C.M.), BEARD (M.V.) and HALMAGYI (N.E.)
Evidence for a common hapten associated with endotoxin fractions of E. coli and other enterobacteriaceae.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1962, 111, (160-166).
- (294) KUNIN C.M.
Separation, characterization, and biological signifiance of a common antigen in enterobacteriaceae.
J. Exp. Med. 1963, 118, (565-586).
- (295) KUROKOWA (A.)
Untersuchungen über perorale und perkutane Immunisierung.
Ztschr. f. Immunitätsforsch. 1926, 46, (464).
- (296) LACOMRE, DUDEVANT
Résultats des mesures obligatoires de vaccination antitypho-paratyphique appliquées à Nantes aux sujets de 10 à 30 ans.
Bull. Acad. Nat. Med., 1945, 129, (366).

- (297) LANDY (M.) and WEBSTER (M.E.)
Studies on Vi antigen - III - Immunological properties of purified antigen derived from Escherichia coli 5386/38.
J. Immunol. 1952, 69, (143-154).
- (298) LANDY (M.)
Enhancement of the immunogenicity of typhoid vaccine by retention of the Vi antigen.
Amer. J. Hyg. 1953, 58, (148).
- (299) LANDY (M.)
Studies on Vi antigen - VI - Immunization of human beings with purified Vi antigen.
Amer. J. Hyg. 1954, 60, (52-62).
- (300) (301) LANDY (M.), JOHNSON (A.G.), WEBSTER (M.E.), SAGIN (J.F.)
Studies on the O antigen of Salmonella typhosa - II - Immunological properties of the purified antigen.
J. Immunol., 1955, 74, (466-478).
- (302) LANDY (M.)
Studies on Vi antigen - VII - Characteristics of the immune response in the mouse.
Amer J. Hyg. 1957, 65, (81).
- (303) LANDY (M.), GAINES (S.), SPRINZ (H.)
Studies on intracerebral typhoid infection in mice - II - Immunological factors concerned in protection.
Brit. J. Exper. Pathol. 1957, 38, (25).
- (304) LANDY (M.), JOHNSON (A.G.) and WEBSTER (M.E.)
Studies on Vi antigen - VIII - Role of acetyl in antigenic activity.
Amer. J. Hyg. 1961, 73, (55-65).
- (305) LANDY (M.), BRAUN (W.) editors.
Bacterial endotoxins
Rutgers University Press, 1964.

- (306) LAVERDANT (Ch.)
Infections typho-paratyphoïdiques chez les vaccinés.
Revue du Corps de Santé des Armées 1966, 7, (79-92.)
- (307) LAWRENCE (R.M.), GOLDSTEIN (E.), HOEPRICH (P.D.)
Typhoid fever caused by chloramphenicol resistant organisms.
J. amer. med. Ass. 1973, 224, (861).
- (308) Le CHUITON (F.), PENNANEAC'H (J.)
Etude expérimentale chez la souris blanche de l'immunité produite
après vaccination contre l'infection par B.typhimurium après injections
de vaccins formolés et chauffés.
Bull. Acad. Nat. Med. 1949, 133, (656).
- (309) LEMIERRE (A.)
A propos de la vaccination antityphique.
Pr. Med. 2 Mars 1932 (329).
- (310) LESBRE (P.)
Immunisation expérimentale par la voie digestive, contre le bacille
paratyphique B.
C.R. Soc. Biol. 1927, (1216).
- (311) LESBRE (P.) et GRANDCLAUDE (C.)
Immunisation expérimentale par voie digestive contre le bacille typhique.
C.R. Soc. Biol. 1928, (122).
- (312) LEVIN (D.M.), WONG (K.H.), REYNOLDS (H.Y.), SUTTON (A.) and NORTHRUP (R.S.)
Vi antigen from Salmonella typhosa and immunity against typhoid fever - II -
Safety and antigenicity in humans.
Infect. Immun. 1975, 12, (1290).
- (313) LEVINE (M.M.), DUPONT (H.L.), HORNICK (R.B.), SNYDER (M.J.), WOODWARD (W.)
GILMAN (R.H.) and LIBONATI (J.P.)
Attenuated, streptomycin-dependant Salmonella typhi oral vaccine : potential
deleterious effects of lyophilization.
J. Infect. Dis. 1976, 133, (424).

- (314) LEVY (E.) et BLUMENTHAL (F.)
Über die bakterizide Wirkung des Zuckers Immunisierung Vermittelt
Lrockner, durch Galaktose abgetöteter Typhusbazillen.
Med. Klin. 1906, 2, (411-412).
- (315) LEVY (E.), BLUMENTHAL (F.) et MARXER
Abtötung und Abschwächung von Mikroorganismen durch chemisch indifferent
Körper.
Zentralbl. f. Bakt. Parasit. I. Abt. Orig. 1906, 42, (265-270).
- (316) LIGNIERES (J.)
Considérations sur la vaccination antiparatyphique.
Bull. Acad. Nat. Med. 1915, 74, (505-510).
- (317) LINDE (K.), KOKH (K.H.), KITLIK (M.), SHMIDT (S.), KEDITTS (K.)
Vaccination orale par des entérobactéries atténuées - II - Le problème
génétique de l'isolement de souches, vivantes atténuées "stables" pour
l'immunisation (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1972, 49, N° 3, (67).
- (318) LOEFFLER (F.)
Über Immunisierung per os.
Zbl. f. Bakt. Parasit. Infektionskr. I Abt. 1908, 41, (163).
- (319) LOUAIL (M.)
Vaccination contre la paratyphose des oiseaux de volière.
Rec. Med. vétér. Ec. Alfort 1952, 128, N° 8 (505).
- (320) LOWY (J.) and HANSON (J.)
Electron microscope studies of bacterial flagella.
J. Mol. Biol. 1965, 11, (293).
- (321) LUDERITZ (O.), JANN (K.) and WHEAT (R.)
Somatic and capsular antigens of gram-negative bacteria.
Compr. Biochem. 1968, 26 A, (105-228).

- (322) LUDERITZ (O.), WESTPHAL (O.), STAUB (A.M.), and NIKAIDO (H.)
Isolation and chemical and immunological characterization of bacterial lipopolysaccharides, in "Microbiol toxins - vol. IV, Bacterial endotoxins" WEINBAUM (G.), KADIS (S.), AJL (S.) edit., Academic Press 1971, (145-233).
- (323) LUMIERE (A.) et CHEVROTIER (J.)
Sur la vaccination antityphique par voie gastro-intestinale.
C.R. Acad. Sci. 1914, 158, (197).
- (323 bis) LUMIERE (A.) et CHEVROTIER (J.)
Vaccination antityphoïdique par scarifications.
C.R. Acad. Sci. 1922, 174, (1080).
- (324) LYASHENKO (V.A.), REPINA (G.V.) and ALEKSANDER (S.K.)
Study of molecular non homogeneity of Vi antigen of typhoid bacilli on radioactive labeled preparations (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1972, 49, N° 6, (3).
- (325) Mc CABE (W.R.)
Immunization with R mutants of S. minnesota - I - Protection against challenge with heterologous gram-negative bacilli.
J. Immunol. 1972, 108, (601).
- (326) Mc CABE (W.R.), KREGER (B.E.) and JOHNS (M.)
Type specific and cross reactive antibodies in gram-negative bacteria.
N. Engl. J. Med. 1972, 287, (261-267).
- (327) Mc CABE (W.R.) and GREELY (A.)
Common enterobacterial antigen - II - Effect of immunization on challenge with heterologous bacilli.
Infect. Immun. 1973, 7, (386-392).
- (328) Mc CABE (W.R.), JOHNS (M.A.), ZINNER (S.H.), DIGENIO (T.) and GREELY (A.)
Type specific and cross reactive antigens of gram-negative bacilli in protection against infection.
In B. Urbaschek, R. Urbaschek and E. Neter (ed), "Gram-negative bacterial infections and mode of endotoxin action". Springer, New-York 1973 (112-120).

- (329) Mc DONOUGH (M.W.)
Amino acid composition of antigenically distinct Salmonella flagellar proteins.
J. Molec. Biol. 1965, 12, (342).
- (330) MACFADYEN (A.) et ROWLAND (S.)
Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus.
Zentralbl. f. bakt. Parasit. Abt. I. Orig., 1901, 30, (753-759).
- (331) MACFADYEN (A.) et ROWLAND (S.)
Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus.
Zentralbl. f. Bakt. Parasit. I. Abt. Orig. 1903, 34, (618-623).
- (332) Mc LAUGHLIN (J.C.) and DOMINGUE (G.J.)
The immunologic role of the ethanol-soluble enterobacterial common antigen versus experimental renal infection.
Immun. Commun., 1974, 3, (51-75).
- (333) Mac LEOD (D.R.E.)
Immunity to Salmonella infection in mice.
J. Hyg. 1954, 52, (9).
- (334) MAGALHAES (M.), VERAS (A.), DAMASO (A.)
Resistência transmissível à gentamicina em estirpes multirresistentes de Salmonella typhimurium.
Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1975, 17, N° 5, (272).
- (335) MAIZEL (J.V.)
Polyacrylamide gel electrophoresis of viral proteins.
Methods in virology, 1971, 5, (179-246) (Academic Press N.Y.).
- (336) MAKELA (P.H.) and MAYER (H.)
Enterobacterial common antigen.
Bact. Rev. 1976, 40, (591-632).
- (337) MANTEN (A.), KAMPELMACHER (E.H.), GUINEE (P.A.M.)
Incidence of resistance to chloramphenicol and tetracyclines among 13502 Salmonella strains isolated in 1961.
Antonie van Leeuwenhoek 1962, 28, (428).

- (338) MANTEN (A.), KAMPEL MACHER (E.H.), GUINEE (P.A.M.)
Noorkomen vom resistentie tegen tetracycline en chlooramfenicol by
Salmonellastammen, geïsoleerd gedurende 1962 in Nederland.
T. Diergeneeskde 1963, 88, (1858).
- (339) MARGOLIS (J.M.), BIGLEY (N.J.)
Cytophilic macroglobulin reactive with bacterial protein in mice immunized
with ribonucleic acid - protein fractions of virulent Salmonella
typhimurium.
Infect. Immun., 1972, 6, (390-397).
- (340) MARINOVA (S.), MANOLOV (D.)
Etude de la stabilité des mutants de salmonelles streptomycine
résistantes avec une virulence atténuée (en bulgare).
Epidemiol. Mikrobiol. infekc. Bolesti 1973, 10, (245).
- (341) MARMION (D.E.), NAYLOR (G.R.), STEWARD (I.O.)
Second attacks of typhoid fever.
J. Hyg. 1953, 51, (260-267).
- (342) MARTIN (D.G.), JARVIS (F.G.), MILNER (K.C.)
Physicochemical and biological properties of sonically treated Vi antigen.
J. Bacteriol 1967, 94, (1411-1416).
- (343) MARTINEZ (R.J.)
A method for the purification of bacterial flagella by ion exchange
chromatography.
J. Gen. Microbiol. 1963, 33, (115).
- (344) MARWICK (G.), SCHMUDDE (R.), NEUMANN-SCHON, WETTER (B.), und RAETTIG (H.)
Orale Immunisierung mit Nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder
ihren Antigenen - 8 Mitt. : vergleichende tierversuche zur Inhalation
Impfung und zur nasalen, oralen, und rektalen Schutzimpfung.
Zbl. Bakt. Parasit. Infektionskr. I. Abt. Orig. 1968, 208, (26).
- (345) MARX (A.) and PETROVICI (M.)
Immunochemical studies on purified common enterobacterial antigen.
Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. I. Abt. Orig. 1975,
233, (486-494).

(346) MASSON (P.)

Sur la durée de l'immunité conférée par la vaccination antitypho-paratyphoïdique.

Thèse de Médecine LYON 1936.

(347) MAZZETTI (G.), MASSONE (F.)

Sull'attività antiendotossica dei vaccini antitifoidei.

Nuovi. Ann. Ig. Microbiol. Ital. 1955, 6, N° 3, (234).

(348) MEDINA (S.), VAS (S.I.), ROBSON (H.G.)

Effect of non specific stimulation on the defense mechanisms of inbred mice.

J. Immunol., 1975, 114, (1720-1725).

(349) MEERSEMAN (F.)

A propos des contre-indications rénales de la vaccination associée anti-diphthérique et antitypho-paratyphoïdique.

Soc. Med. Mil. Fr. 1934, 28, (195-200).

(350) MEERSEMAN (F.)

A propos des néphrites post-vaccinales.

Soc. Med. Mil. Fr. 1935, 29, (21).

(351) MEL (D.M.), ARSIC (B.L.), RADOVANOVIC (M.L.), KALJALOVIC (R.) and LITVINJENKO (S.)

Safety tests in adults and children with live oral typhoïd vaccine.

Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung. 1974, 21, (161).

(352) MELIKOVA (E.N.)

Etude expérimentale de l'activité immunogène du monovaccin antityphoïdique alcoolisé (en russe).

Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1957, 28, (52).

(353) MELNOTTE (P.) et DURET (M.)

Néphrite aiguë après vaccination triple associée.

Soc. Med. Mil. Fr. 1938, 32, (105-108).

(354) MERY (H.) et HALLE (J.)

Sur certaines formes de réactions vaccinales antityphoïdiques (chocs vaccinaux), leur traitement par l'adrénaline.

Bull. et Mem. Soc. Med. Hop. Paris 1916 (1774-1787).

- (355) METCHIKOFF (E.) et BESREDKA (A.)
Sur la fièvre typhoïde expérimentale.
Ann. Inst. Pasteur, 1911, 25, (193-221).
- (356) METCHNIKOFF (E.) et BESREDKA (A.)
Des vaccinations antityphiques.
Ann. Inst. Pasteur. 1911, 25, (865-881).
- (357) MEUNIER (J.)
Incidents et accidents de la vaccination antitypho-paratyphique. La réaction locale du 7ème jour.
Th. Med. Paris 1940.
- (358) MILES (A.A.), PIRIE (N.W.)
The properties of antigenic preparations from Brucella melitensis.
I Chemical and physical properties of bacterial fractions.
Brit. J. Exp. Pathol. 1939, 20, (83-98).
- (359) MILNER (K.C.), RUDBACH (J.A.) and RIBI (E.)
General characteristics, in "Bacterial endotoxins", vol IV, (1-65)
WEINBAUM (G.), KADIS (S.) and AJL (S.J.) edit. Academic Press N.Y. 1971.
- (360) MITSUHASHI (S.), KAWAKAMI (M.), YAMAGUCHI (U.) and NAGAI (M.)
Studies on the experimental typhoid. A comparison study of living and killed vaccines against the infection of mice with S. enteritidis.
Jap. J. Exper. Med., 1958, 28, (249).
- (361) MITSUHASHI (S.), HASHIMOTO (H.), KAWAKAMI (M.)
Anti-lethal resistance of mice immunized with live vaccine against infection with Salmonella enteritidis.
Jap. J. Exper. Med. 1960, 30, (375).
- (362) MIZON (F.), LECLERC (H.)
Les plasmides de résistance aux antibiotiques chez les Salmonella ;
étude écologique et intérêt épidémiologique à propos du modèle : Salmonella panama.
Rev. Epidemiol. Med. soc. Santé publ. 1975, 23, (231).

- (363) MORGAN (W.T.J.), PARTRIDGE (S.M.)
Studies in immunochemistry - IV - The fractionation and nature of antigenic material isolated from Bact. dysenteriae.
Biochem. J. 1940, 34, (169-191).
- (364) MOLINARI (J.L.), LARRALDE (C.)
Acquired immunity to murine typhoid induced in mice with fractions of Salmonella typhimurium.
Rev. latinoamer. Microbiol. 1974, 16, N° 4, (189).
- (365) MOLINARI (J.L.), CABRERA (R.)
Inmunidad inducida con una preparacion ribosomale obtenida de Salmonella typhi Ty2.
Rev. Latinoamer. Microbiol. 1974, 16, N° 4, (199).
- (366) MOLINARI (J.L.), FLISSER (A.), CABRERA (R.)
Inmunidad inducida con fraccion ribosomal obtenida de Salmonella typhi Ty2 contra diversas cepas de S. typhi.
Rev. latinoamer. Microbiol. 1975, 17, N° 3, (149).
- (367) MOOR (H.D.) and BROWN (W.L.)
Investigation of protective antibodies produced by administration of typhoid vaccines.
L. Labor. a.clin. Med. 1941, 26, (1883).
- (367 bis) MOORE (S.), STEIN (W.)
Chromatographic determination of amino-acids by the use of automatic recording equipment.
Methods in enzymology, 1963, 6, (819-831) Academic Press. N.Y.
- (368) MYNARD (M.C.), TRIAU (R.), VALETTE (L.) and DONIKIAN (R.)
Preparation and controls on animals of an oral TAB vaccine.
Progr. Immunobiol. Stand. 1971, 15, (151-160).
- (369) NAGLER (A.L.), LEVENSON (S.M.)
Experimental hemorrhagic and endotoxic shock
in "Bacterial endotoxins" KADIS (S.), WEINBAUM (G.), AJL (S.) edit.,
1971, V, (341-398) (Academic Press N.Y.).

- (370) NAPOLITANO (L.), SCURO (L.A.), SORICE (F.), MACIA (M.)
Risposta immunitaria umorale ad antigeni batterici in soggetti allergici.
Riv. Ist. sieroterap. Ital. 1956, 31, (328).
- (371) NEGRETTI (F.)
Efficacia protettiva di alcune vaccini batterici orali inattivati.
Ann. Sclavo. 1971, 14, (591).
- (372) NEISSER (M.) und SHIGA (K.)
Über freie Rezeptoren von Typhus-und Dysenteriebazillen und über das
ysenterietoxin.
Deutsch. Med. Wochensch. 1903, 29, (61-62).
- (373) NEU (H.C.), CHERUBIN (C.E.), LONGO (E.D.), FLOUTON (B.), WINTER (J.)
Antimicrobial resistance and R-factor transfer among isolates of
Salmonella in the northeastern United States : a comparison of human and
animal isolates.
J. Infect. Dis. 1975, 132, (617).
- (374) NEUHAUSER (S.), TEWARI (R.P.), CINO (P.M.)
Specificity of immunoprotection induced by immunization with ribosomal
preparations from yeast cells of Histoplasma capsulatum.
74 th Ann. Meet. Amer. Soc. Microbiol. Chicago, 1973, Mm 6, (136).
- (375) NICOLLE (C.), CONOR (A.) et CONSEIL (E.)
De l'inoculation intraveineuse de bacilles typhiques morts à l'homme.
C.R. Acad. Sci. 1912, 155, (1037.)
- (376) NJOKU-OBI (A.N.), NJOKU-OBI (J.C.)
Resistance of Salmonella typhosa to chloramphenicol.
J. Bacteriol, 1965, 90, (552).
- (377) NOBECOURT et PEYRE
Sur quelques manifestations de la maladie vaccinale consécutive aux
injections antitypho-paratyphiques.
Bull. Mem. Soc. Med. Hop. Paris 1916 (1755)

- (378) NOWOTNY (A.)
Molecular aspects of endotoxic reactions.
Bacteriol. Rev., 1969, 33, (72-98).
- (379) NOWOTNY (A.M.), SCOTT (T.), DURON (O.S.) and NOWOTNY (A.)
Relation of structure to function in bacterial O antigens - I Isolation methods.
J. Bacteriol. 1963, 85, (418-428).
- (380) OLITZKI (A.L.) and GODINGER (D.)
Comparative studies on Salmonella typhi grown in vivo and in vitro - III -
The immunizing potencies of acetone killed vaccines prepared from in vivo
and in vitro grown bacteria and the immunizing potency of substances isolated
from infected organs.
J. Hyg., Camb., 1963, 61, (353).
- (381) OLLE (P.)
La vaccination antityphique.
Th. Med. LYON 1910.
- (382) O.M.S.
Les vaccins buccaux contre les entero bactéries.
Rapport d'un groupe scientifique de l'O.M.S.
Série de Rapports techniques - N° 500 - GENEVE 1972.
- (383) O.M.S.
Surveillance des Salmonella.
Chron. O.M.S. 1975, 29, N° 6, (259).
- (384) O'NEILL (G.J.) and TODD (J.P.)
Extraction of nucleic-acid free lipopolysaccharide from gram-negative
bacteria.
Nature, 1961, 190, (344-345).
- (385) ORSKOV (J.) and KAUFFMANN (F.)
Significance of Vi antigen in mechanism of experimental typhoid in mice.
J. Hyg. 1936, 36, (514-524).

- (386) OTTOLENGHI (D.) et BROTZEN (G.)

Untersuchungen über die orale Typhus und Paratyphus Impfung.
Ztschr. f. Hyg. u. Immunitätsforsch. 1930, 65, (195).

- (387) OUTCHERLONY (O.)

Antigen-antibody reaction in gel - IV - Types of reactions in coordinated systems of diffusion.

Acta. Path. Microbiol. Scand. 1953, 32, (231-242).

- (388) PANERO (C.), SALETTI (M.) and DITOMASO (I.)

The detection of intestinal IgA in children following oral typhoid vaccine.

Progr. Immunobiol. Stand. 1972, 5, (369).

- (389) PELUFFO (C.A.)

Stability of Vi antigen of Salmonella Typhi.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1941, 48, (340).

- (390) PERSHIN (B.B.)

Vaccination par voie entérale contre la fièvre typhoïde. Communication I : Efficacité d'une immunisation entérale contre la fièvre typhoïde avec E. Coli contenant l'antigène Vi (en russe).

Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1963, 40, N° 8, (19).

- (391) PERSHIN (B.B.)

Immunisation entérique antityphique - II - Efficacité de l'immunisation entérique faite au moyen des antigènes chimiques Vi et O (en russe).

Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1964, 41, N° 10, (107).

- (392) PERSHIN (B.B.), LEBEDEV (K.A.), NOVIKOVA (F.A.).

Application of the coonstest in studie on immune reaction to oral typhoid vaccination.

Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 1974, 21, (173).

- (393) PFEIFFER (R.) et KOLLE (W.)

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung der Menschen gegen Typhus abdominalis.

Deutsch. Med. Woch. 1896, 22, N° 46, (735-737).

- (394) PIJPER (A.) and DAN (H.)
Typhoid agglutination after oral immunization.
Brit. J. Exper. Path. 1930, 11, (112).
- (395) PRITULIN (P.I.)
Sur l'immunisation aërogène des animaux (en russe).
Veterinarija 1961, 38, (19).
- (396) PUTRIN (N.G.)
Expérience dans la vaccination antityphoïdique chez des enfants d'âge
préscolaire avec une préparation chimique d'antigène Vi de S. Typhi
(en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1965, 42, N° 5, (119).
- (397) RAETTIG (H.)
Typhusimmunität und Schutzimpfung.
Jena., Gustav. Fischer ed., 1952 (158).
- (398) RAETTIG (H.)
Provokation einer Infektion durch Schutzimpfung - II - Unspezifische
Provokation während der experimentellen Epidemie mit S. typhimurium.
Zbl. Bakteriол. Parasitenkde Infekt. - Krankh. Hyg. I Abt. orig. 1959,
175, (236).
- (399) RAETTIG (H.)
Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Antigenen.
Vorläufige Mitteilung.
Zbl. Bakteriол. Parasitenkde. Infekt. Krankh. Hyg. I Abt. orig. 1961,
182, (525-528).
- (400) RAETTIG (H.)
Orale immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren
Antigenen I Mitt. Der Gundersuch zur Schutzimpfung der Maus gegen eine
Enteritis-Infektion.
Zbl. Bakt. Parasitenkde. Infekt. Krankh. Hyg. I Abt. Orig. 1964, 193, (398).

(401) RAETTIG (H.)

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren antigenen. 2 Mitt. Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei der Enteritis-Infektion der Maus.

Zbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infekt. Krankh. Hyg. I Abt. Orig. 1965, 197, (368).

(402) RAETTIG (H.)

Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen.

Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch-Institut.

Bundesgesundheitsblatt 14, 1971, 11, (141-147).

(403) RAETTIG (H.)

Combined vaccines from inactivated enterobacteriaceae for oral application.

Progr. Immunobiol. Stand. 1971, 15, (49).

(404) RAETTIG (H.), STEFFEN (R.) and SCHUBERT (I.)

Oral immunization with non-viable micro-organisms or their antigens - 16 communication : time kinetics of the protection after vaccination.

Zbl. Bakt. Parasitenkd. Infekt. Krankh. Hyg. I Abt. Orig. 1973, A2, 25, (263-272).

(405) RAFFEL (S.)

Immunity, hypersensitivity and serology.

Appleton-Century-Crofts. New-York 1953 (419).

(406) RAISTICK (H.), TOPLEY (W.W.C.)

Immunizing fractions isolated from Bact. aertryke.

Brit. J. Exp. Pathol. 1934, 15, (113-130).

(406 bis) RAMON (G.) et ZOELLER (C.)

Les vaccins associés par union d'une anatoxine et d'un vaccin microbien ou par mélange d'anatoxines.

C.R. Soc. Biol., Séance du 16 janvier 1926.

(407) RANQUE (A.) et SENEZ (Ch.)

L'immunité spécifique et l'immunité de groupe obtenue contre les bacilles typhiques et paratyphiques A et B par les vaccins iodés.

Bull. Acad. Med. 1915, 74, N° 2, (703-706).

- (408) RAUSS (K.), KETYI (I.)
Determination of potency of typhoid antigens by means of hemagglutination inhibition test.
Pathol. Microbiol. 1952, 25, (235).
- (409) RAYNAUD (M.), DIGEON (M.)
Une nouvelle méthode de préparation des endotoxines.
C.R. Acad. Sci. 1960, 251, (985-986).
- (410) REID (D.B.W.) and Mc LEOD (D.R.E.)
The relation between dose and mortality for Salmonella dublin.
J. Hyg. 1954, 52, (18).
- (411) REITMAN (M.)
Infectivity and antigenicity of streptomycino-dependant Salmonella typhosa.
I. Infect. Dis. 1967, 117, (101)
- (412) RENDU (R.)
Comment a pu naître la croyance en l'efficacité de la vaccination anti-typho-paratyphoïdique.
Lyon Med. 1954, 86, N° 38, (243).
- (413) RENDU (R.)
Les premiers essais de vaccination contre la fièvre typhoïde (1911-1913).
Progr. Med. 1954, 82, N° 24 (520).
- (414) RENDU (R.)
A propos de la vaccination antitypho-paratyphique.
Résultats d'autrefois et d'aujourd'hui.
Lyon Med. 1955, 87, N° 4, (86).
- (415) RIBI (E.), HASKINS (W.T.), LANDY (M.) and MILNER (M.C.)
Preparation and host reactive properties of endotoxin with low content of nitrogen and lipid.
J. Exp. Med., 1961, 114, (647-663).

- (416) ROBERT (M.)
Etude du macrophage a véolaire dans la protection contre les infections respiratoires par les ribosomes bactériens.
Thèse de doctorat de spécialité (Biochimie), Lyon 1977, n° 623.
- (417) ROBERTS (R.S.)
The endotoxin of Bact. coli.
J. Comp. Path. Therap. 1949, 59, (234-304).
- (418) ROWLEY (D.)
Stimulation of natural immunity to Escherichia coli infections - Observations in mice.
Lancet, 1955, 268, (232-234).
- (419) ROWLEY (D.)
Rapidly induced changes in the level of non specific immunity in laboratory animals.
Brit. J. Expt. Pathol., 1956, 37, (223-234).
- (420) RUSSEL
Report of two deaths from third inoculation with typhoid paratyphoid vaccine.
Kentucky. M.J. Bowling green 1924, (378).
- (421) SACQUEPEE (E.), PILOD (M.), JUDE (A.)
L'immunité antitétanique et l'immunité antitypho-paratyphique chez l'adulte soumis à la vaccination associée triple antitypho-paratyphoïdique, antidiphthérique et antitétanique.
Bull. Acad. Nat. Med. 1936, 116, (202).
- (422) SAGESSE (E.)
Sul valone comparativo della vaccinazione antitifica per via orale, sottocutanea e mista orale - sottocutanea.
Giorn. Batter. 1940, 24, (80).
- (423) SAITO (I.), MITSUMASHI (S.)
Experimental salmonellosis - VII - In vitro transfer of cellular immunity by ribosomal fractions of mouse mononuclear phagocytes.
J. Bacteriol., 1965, 90, (1194-1199).

- (424) SALETTI (M.), PANERO (C.), GENNA (G.), RIPARBELLI (G.), MORGESE (G.)
Ricerche sperimentali con vari tipi di vaccino tifico somministrato
per via orale, nell'animale e nell'uomo.
Progr. Immunobiol. Scand. 1970, 4, (372).
- (425) SANARELLI
Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale - 1er mémoire.
Ann. Inst. Pasteur 1892, 6, (721).
- (426) SCHALLA (W.O.), JOHNSON (W.)
Immunogenicity of ribosomal vaccines isolated from group A type 14
Streptococcus pyogenes.
Infect. Immun., 1975, 11, (1195-1202).
- (427) SCHOLTEN (R.T.)
Der Glatt - Rauformenwechsel des Bacterium typhi.
Zentralbl. f. Bakt. Brasit. Infekt. Krankh. Hyg. I Abt. Orig. 1937,
139, (467-476).
- (428) SCHUIZE (H.)
Sterilization of anti-typhoid vaccine.
J. Hyg. 1936, 36, (559-563).
- (429) SERGEEV (W.W.), FROLOVA (M.A.), PROTASOVA (D.V.), ELKINA (S.I.),
SHUSTER (B.YU)
Sur le mécanisme de l'immunogénèse dans la vaccination avec les mutants
S^d de Salmonella et Shigella - II La non réceptivité des souris à S.
enteritidis, dans l'immunisation avec le mutant et la culture tuée (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1970, 47, N° 5, (127).
- (430) SERGEEV (W.W.), ELKINA (S.I.), SHUSTER (B.Y.), LIMAREV (W.Q.)
Sm-d Shigella-und Salmonella-Mutanten zur Grundlage der Gewinnung enterales
Lebendvakzine.
Z. ges. Hyg. Grenzgeb. 1973, 19, (657).
- (431) SERVANT (P.)
Propriétés antigénétiques de vaccins expérimentaux contre les Salmonelloses
obtenus par irradiation gamma de bactéries vivantes.
Rev. corps Santé Armées 1966, 7, (167-175).

- (432) SEVERTSOVA (M.K.), STANISIAVSKY (E.S.)
Immunity to experimental salmonellosis infection and the molecular weight heterogeneity of S. typhimurium. (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., 1972, 49, (103-108).
- (433) SHANDS (J.W.)
The physical structure of bacterial lipopolysaccharides, in
"Microbiol toxins, vol. IV, Bacterial endotoxins" WEINBAUM (G.),
KADIS (S.) AJL (J.) edit., Academic Press N.Y. 1971, (127-144).
- (434) SHIGA (K.)
Über active Immunisierung von Menschen gegen den Typhusbacillus.
Berl. klin. Wochenschr. 1904, 41, (99).
- (435) SHIMOJO (H.)
Staining of Vi capsule of S. Typhi and other bacteria by the FeCl₃ method.
Jap. J. Exp. Med. 1951, 21, (159-160).
- (436) SHORT (V)
La vaccination antityphique par voie buccale.
Thèse de Médecine Genève 1956 (N° 2427).
- (437) SITPRIJA (V.), PIPATANAGUL (V.), BOONPUCKNAVIG (V.) and BOON PUCKNAVIG (S.)
Glomerulitis in typhoid fever.
Ann. Intern. Med., 1974, 81, (210).
- (438) SMITH (E.V.)
Heat stability and serologic activity of toxic extracts of typhoid bacillus.
J. Infect. Dis. 1938, 63, (21-24).
- (439) SMITH (H.W.)
The use of live vaccines in experimental Salmonella gallinarum infection in chicken with observations on their interference effect.
J. Hyg. 1956, 54, (419).

(440) SMITH (H.W.)

The immunity to Salmonella gallinarum in chickens produced by live cultures of members of the Salmonella genus.

J. Hyg. 1956, 54, (433).

(441) SMITH (H.W.)

The immunization of mice, calves and pigs against Salmonella dublin and Salmonella cholerae-suis infections.

J. Hyg. 1965, 63, (117).

(442) SMITH (H.W.), HALLS (S.)

The immunity produced by a rough Salmonella dublin variant against Salmonella typhimurium and Salmonella choleraesuis in guinea-pigs.

J. Hyg. 1966, 64, (357).

(443) SMITH (R.A.) and BIGLEY (N.J.)

Ribonucleic acid-protein fractions of virulent Salmonella typhimurium as protective immunogens.

Infect. Immun. 1972, 6, (377-383).

(444) SMITH (R.A.), BIGLEY (N.J.)

Détection of delayed hypersensitivity in mice infected with ribonucleic acid-protein fractions of Salmonella typhimurium.

Infect. Immun., 1972, 6, (384-389).

(445) SMITH (R.L.), WYSOCKI (J.A.), DE COUREY (S.J.), BLAKEMORE (W.S.) and MUDD (S.)

Protection by intraperitoneal vaccination with a ribosomal preparation against intravenous challenge with Pseudomonas aeruginosa.

J. reticuloendoth. Soc. 1972, 11, (409).

(446) SMITH (R.L.), WYSOCKI (J.A.), BRUUN (J.N.), DE COUREY (S.J.), BLAKEMORE (W.S.) and MUDD (S.)

Efficacy of ribosomal preparations from Pseudomonas aeruginosa to protect against intraveinuous Pseudomonas challenge in mice.

J. reticuloendoth. Soc., 1974, 15, (22-30).

- (447) SMITH (T.) and REAGH (A.L.)

The non identity of agglutinins acting upon the flagella and upon the body of bacteria.

J. Med. Res. 1903, 10, (89)

- (448) SNELL (E.S.)

Endotoxin and the pathogenesis of fever, in

"Bacterial endotoxins" KADISH (S.), WEINBAUM (G.), AJL (S.) edit.

1971, V, (277-340) (Academic Press N.Y.).

- (448 bis) SPACKMAN (D.H.), STEIN (W.H.), MORRE (S.)

Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino-acids.

Anal. Chem., 1958, 30, (1190-1206).

- (449) SPAUN (J.)

Estimation of typhoid vaccines by agglutinin titration of immune rabbit sera.

Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 1954, 34, (286).

- (450) SPAUN (J.)

Typhoid vaccine: Vi antigen and Vi antibody.

Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 1957, 123, (79 pages).

- (451) SPAUN (J.) and UEMURA (K.)

International reference preparation of typhoid vaccine.

Bull. Wld. Hlth. Org. 1964, 31, (761).

- (452) STANDFAST (A.F.B.)

A report on the laboratory assays carried out at the Lister Institute of preventive medicine on the typhoid vaccines used in the field study in Yugoslavia.

Bull. Org. Mond. Santé 1960, 23, (37).

- (453) STANDFAST (A.F.B.)

Experiments with Vi-negative strains of Salmonella typhi.

Bull. Org. Mond. Santé 1960, 23, (47).

- (454) STARR (M.P.) and WILLIAMS (H.C.)
Helical fine structure of flagella of a motile diptheroïd.
J. Bacteriol. 1952, 3, (70).
- (455) STASILEVICH (Z.K.), SERGEEV (V.V.), VOSKANYAN (N.A.), GORISLAVETS (I.I.),
LIMAREV (V.A.), ELKINA (S.I.), SHUSTER (B.Yu).
Essai sur des singes de vaccins à base de Salmonella vivantes, streptomycino-
dépendantes (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1972, 49, N° 4, (120).
- (456) STAUB (A.M.) et RAYNAUD (M.)
Structure des antigènes O, R, H et Vi des Salmonelles.
dans "The world problem of Salmonellosis"
Van Oye edit. 1964, p. 143.
- (457) STAUB (A.M.) et WESTPHAL (O.)
Etude chimique et biochimique de la spécificité immunologique des polysides
bactériens.
Bull. Soc. Chim. Biol. 1964, 46, (1647-1684).
- (458) STERNE (M.) and TRIM (G.)
The effects of non specific agents and route of administration.
Progr. Immunobiol. Stand. 1971, 15, (93-98).
- (459) STERNE (M.) and TRIM (G.)
Assay of typhoïd vaccines in mince.
J. Med. Microbiol, 1974, 7, (197).
- (460) STICKL (H.), MARDER (E.)
A proposito della vaccinazione antitifoïdea per via orale.
Minerva Med. 1968, 59, (5231).
- (461) STOCKER (B.A.D.)
Measurement of rate of mutation of flagellar antigenic phase in
Salmonella typhimurium.
J. Hyg. 1949, 47, (398).

(462) STOCKER (B.A.D.)

Methods of removing flagella from live bacteria ; effects on motility.
J. Pathol. Bacteriol 1957, 73, (314).

(463) SWENDSEN (C.L.), JOHNSON (W.)

Humoral immunity to streptococcus pneumoniae induced by a pneumococcal ribosomal protéin fraction.
Infect. Immun., 1976, 14, (345-354).

(464) TCHITCHKINE

Influence de l'ingestion de bactéries sur les propriétés du sérum.
Ann. Inst. Pasteur 1904 (576).

(465) TEAGUE (O.) and Mc WILLIAMS (H.J.)

J. Immunol., 1917, 2, (185) cité par MILNER (359).

(466) THILO (W.)

Experimentelle Untersuchungen zur Prüfung und Bewertung von inaktivierten Oralimpfstoffen gegen bakterielle Darminfektionen.
Dissertation Berlin 1973.

(467) THOMAS (D.W.), WEISS (E.)

Response of mice to injection of ribosomal fraction from group B.
Neisseria meningitidis.
Infect. Immun., 1972, 6, (355-363).

(468) THOMPSON (H.C.W.) and SNYDER (I.S.)

Protection against pneumococcal infection by a ribosomal preparation.
Infect. Immunity, 1971, 3, (16-23).

(469) THOMPSON (H.C.W.), EISENSTEIN (T.K.)

Biological properties of an immunological pneumococcal subcellular preparation
Infect. Immun., 1976, 13, (750-757).

- (470) TKACHENKO (V.N.)
Etudes expérimentales sur les propriétés immunogènes de mutants de Salmonella typhimurium ayant besoin de guanine (en russe).
Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1967, 44, N° 10, (102).
- (471) TOBA (A.)
Studies on the mechanism of immunity in experimental Salmonellosis.
Yokohama Med. Bull. 1954, 5, (204, 263 et 327).
- (472) TOPLEY (W.W.C.), GREENWOOD (M.) and WILSON (J.)
A strain of Bact.aertriche with unusual epidemic characters.
J. Path. Bact. 1931, 34, (523).
- (473) TOPLEY (W.W.C.) and WILSON (J.)
"Principles of bacteriology, virology and immunology"
6 th Edition revised by Wilson (G.S.) and Milnes (A.A.) - Ed. Arnold 1975.
- (474) TRIBBY (W.W.), STOCK (A.H.), WARNER (F.B.)
Typhoïd fever in inoculated U.S. soldiers.
Milit. Surgeon. U.S.A. 1948, 103, N° 3, (210).
- (475) TRON (G.)
Sul valore della vaccinazione antitifico-paratifica per via orale.
Rif. Med. 1936, (1743).
- (476) TULLY (J.G.), GAINES (S.)
Comparison of intraperitoneal and intracerebral infective techniques for evaluating typhoïd vaccines in mouse protection tests.
Amer. J. Hyg. 1961, 74, (259).
- (477) TULLY (J.G.), GAINES (S.)
H antigen of Salmonella typhosa.
J. Bacteriol. 1961, 81, (924).
- (478) TULLY (J.G.), GAINES (S.), TIGERTT (W.D.)
Studies on infection and immunity in experimental typhoïd fever. IV-
Role of H antigen in protection.
J. infect. Dis. 1963, 112, (118).

- (479) TULLY (J.G.), GAINES (S.), TIGERTT (W.D.)
Studies on infection and immunity in experimental typhoid fever. V-
Respiratory challenge of chimpanzees with Salmonella typhosa.
J. infect. Dis. 1963, 113, (131).
- (480) TULLY (J.G.), GAINES (S.), TIGGERT (W.D.)
Studies on infection and immunity in experimental typhoid fever
VI response of chimpanzees to endotoxin and the effect of tolerance
on resistance to oral challenge.
J. infect. Dis. 1965, 115, (445-455).
- (481) UNWIN (P.N.T.)
Three - dimensional model of membrane - bound ribosomes obtained by
electron-microscopy.
Nature, 1977, 269, (118-122).
- (482) USHIBA (D.), YOSHIOKA (M.), IWAHATA (R.) and YAMAGATA (S.)
Studies on the immunity on experimental typhoid - II - Effects of the
immunization with killed vaccines on Salmonella-enteritidis infection
of mice.
Keio J. Med. 1953, 2, (75).
- (483) VAILLANT (L.)
Notes sur l'emploi du vaccin bilié de Besredka par la voie buccale dans
quelques foyers épidémiques de fièvre typhoïde.
Ann. Inst. Pasteur 1922, 36, (149).
- (484) VENNEMAN (M.R.) and BIGLEY (N.J.)
Isolation and partial characterisation of an immunogenic moiety obtained
from Salmonella typhimurium .
J. Bacteriol. 1969, 100, (140-148).
- (485) VENNEMAN (M.R.), BIGLEY (N.J.) and BERRY (L.J.)
Immunogenicity of ribonucleic acid preparations obtained from
Salmonella typhimurium.
Infect. Immunity, 1970, 1, (574-582).

- (486) VENNEMAN (M.R.) and BERRY (L.J.)
Experimental salmonellosis. Differential passive transfer of immunity with serum and cells obtained from ribosomal and ribonucleic acid immunized mice.
J. Reticuloendoth. Soc., 1971, 9, (491-502).
- (487) VENNEMAN (M.R.) and BERRY (L.J.)
Serum-mediated resistance induced with immunogenic preparations of Salmonella typhimurium.
Infect. Immun., 1971, 4, (374-380).
- (488) VENNEMAN (M.R.), BERRY (L.J.)
Cell - mediated resistance induced with immunogenic preparations of Salmonella typhimurium.
Infect. Immun., 1971, 4, (381-387).
- (489) VENNEMAN (M.R.)
Purification of immunogenically active ribonucleic acid preparations of Salmonella typhimurium : molecular-sieve and anion-exchange chromatography.
Infect. Immun., 1972, 5, (269-282).
- (490) VICAREZZA (R.F.), DALKE, MARTINEZ (L.M.), und VICAREZZA (A.J.)
Agglutinationskraft des Serums bei Personen, die per os gegen Typhus und Paratyphus geimpft wurden.
Zbl. f. Bakteriologie Parasitenkd. Infektionskrankh. Hyg. I Abt. Orig. 1935, 118, (161.)
- (491) VINCENT (H.)
Les bases expérimentales de la vaccination antityphique.
C.R. Acad. Sciences 1910, 150, (355-357).
- (492) VINCENT (H.)
Vaccination antityphoïdique.
Journ. Med. Fr. 1923 (417).
- (493) VINCENT (H.)
Sur la prophylaxie rationnelle de la fièvre typhoïde par la vaccination efficace (à l'éther).
Bull. Acad. Nat. Med. 1950, 134, (116).

- (494) VLADOIANU (I.R.), DUBINI (F.), BOLLOLI (A.)
Contribution to the study of live streptomycin-dependent Salmonella
vaccines : the problem of reversion to a virulent form.
J. Hyg. 1975, 75, (203).
- (495) VLADOIANU (I.R.), DUBLINI (F.)
Experimental model of oral antityphoid vaccination with live streptomycin-
dependant-Salmonella typhimurium in C 57-BL/6 mice.
J. Hyg. 1975, 75, (215).
- (496) WAHDAN (M.H.), SIPPEL (J.E.), MIKHAIL (I.A.), RAHKA (A.E.), ANDERSON
(E.S.), SPARKS (H.A.) and CVJETANOVIC (B.)
Controlled field trial of a typhoid vaccine prepared with a nonmotile
mutant of Salmonella typhi Ty2.
Bull. Wld. Hlth. Org. 1975, 52, (69).
- (497) WALDMAN (R.H.), GRUNSPAN (R.) and SENTERFITT (U.)
Oral immunization of mice with killed Salmonella typhimurium vaccine.
Progr. Immunobiol. Stand. 1971, 15, (99).
- (498) WALDMAN (R.H.), GRUNSPAN (R.), GANGULY (R.)
Oral immunization of mice with killed Salmonella typhimurium vaccine.
Infect. and Immun. 1972, 6, (58-61).
- (499) WALKER (J.)
Method for isolation of toxic and immunizing fractions from bacteria
of Salmonella group.
Biochem. J. 1940, 34, (325-329).
- (500) WARDLAW (A.C.)
Endotoxin and complement substrate, in "Bacterial endotoxins" LANDY M.
and BRAUN W. edit., Rutgers University Press, New Brunswick, N.Y., 1964
(81-88).
- (501) WEBSTER (L.T.)
Experiments on normal and immune mice with a bacillus of mouse typhoid
J. Exper. Med. 1922, 36, (71).

- (502) WEBSTER (M.E.), LANDY (M.) and FREEMAN (M.E.)
Studies on Vi antigen II - Purification of Vi antigen from
Escherichia coli 5396/38.
J. Immunol. 1952, 69, (135-142).
- (503) WEBSTER (M.E.), CLARK (W.R.) and FREEMAN (M.E.)
Evidence for an aminohescuronic acid as hydrolytic product of Vi antigen.
Arch. Biochem. 1954, 50, (223-224).
- (504) WEBSTER (M.E.), SAGIN (J.F.), ANDERSEN (P.R.), BREESE (S.S.), FREEMAN
(M.E.) and LANDY (M.)
Studies on Vi antigen IV Physicochemical characterization of Vi antigen
isolated from V form enterobacteriaceae.
J. Immunol. 1954, 73, (16-22).
- (505) WEIBULL (C.)
Some chemical and physico-chemical properties of the flagella of Proteus
vulgaris.
Biochim. Biophys. Acta 1948, 2, (351).
- (506) WEIBULL (C.)
Morphological studies on salt precipitated bacterial flagella.
Ark. Kemi 1949, 1, (21).
- (507) WEIBULL (C.)
Investigations on bacterial flagella
Acta Chem. Scand. 1950, 4, (268).
- (508) WEIL (E.) und FELIX (1)
Untersuchungen über das Wesen der Flieckfieber-agglutination.
Wien. Klin. Wochenschr. 1917, 30, (393).
- (509) WEIL (E.) und FELIX (A.)
Über den Doppeltyphus des Rezeptoren in der Typhus - Paratyphus - Gruppe.
Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap. 1920, 29, (24-91).

- (510) (511) WESTPHAL (O.), LUDERITZ (O.) und BISTER (F.)
Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser
Z. Naturforsch. 1952, 73, (148-155).
- (512) WESTPHAL (O.) und LUDERITZ (O.)
Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien.
Angew. Chem., 1954, 66, (407-417).
- (513) WESTPHAL (O.) and JANN (K.)
Bacterial lipopolysaccharides - Extraction with phenol-water and further applications of the procedure
in "Methods of carbohydrate chemistry" (R.L. WHISTLER and M.L. WOLFROM edit.)
Academic Press N.Y. 1965, 5, (83-91).
- (514) WEYER (E.M.), NOWOTNY (A.)
Molecular biology of gram-negative bacterial lipopolysaccharides.
Ann. New-York Acad. Sci., 1966, 133, (277-786).
- (515) WHANG (H.Y.) and NETER (E.)
Demonstration of common antigen in Salmonella typhi spheroplasts.
Can. J. Microbiol 1965, 11, (598-601).
- (516) WHANG (H.Y.), CHUN (D.), YAGI (Y.) and NETER (E.)
Immunogenicity of soluble and aggregated common enterobacterial antigen.
Int. Arch. Allergy. 1970, 38, (57-67).
- (517) WHANG (H.Y.), MAYER (H.) SCHMIDT (G.) and NETER (E.)
Immunogenicity of the common enterobacterial antigen produced by smooth and rough strains.
Infect. Immun. 1972, 6, (533-539).
- (518) WHITESIDE (R.E.) and BAKER (E.E.)
The Vi antigens of the enterobacteriaceae - II - Immunologic and biologic properties.
J. Immunol. 1959, 83, (687-696).

(519) WIDAL (F.)

A propos de la vaccination antityphique.

Bull. Acad. Nat. Med., séance du 23 mai 1915 (363).

(520) WIDAL (F.)

Etude sur les vaccinations mixtes anti-typhoïdiques et antiparatyphoïdiques.

Bull. Acad. Nat. Med. 1915, 74, (148).

(521) WINSTON (S.M.) and BERRY (L.J.)

Immunity induced by ribosomal extracts from Staphylococcus aureus.

J. Reticuloendoth. Soc., 1970, 8, (66-73).

(522) WOLF (K.)

Immunisierung per os.

Münch. med. Wochenschr. 1908, (270).

(523) WOLFROMM (R.) et BERNARD (J.G.)

Incidents et accidents des vaccinations, le point de vue de l'allergiste.

Rev. du Corps de Santé des Armées 1966, 7, (55-72).

(524) WONG (K.H.) and FEELEY (J.C.)

Isolation of Vi antigen and a simple method for its measurement.

Appl. Microbiol. 1972, 24, (628-633).

(525) WONG (K.H.), FEELEY (J.C.) and PITTMAN (M.)

Effect of a Vi degrading enzyme on potency of typhoïd vaccines in mice.

J. Infect. Dis. 1972, 125, (360-366).

(526) WONG (K.H.), FEELEY (J.C.), NORTHRUP (R.S.) and FORLINES (M.E.)

Vi antigen from Salmonella typhosa and immunity against typhoïd fever.

I-] Isolation and immunologic properties in animals.

Infect. Immun. 1974, 9, (348).

(527) WRIGHT and SEMPLE

Remarks on vaccination against typhoïd fever.

Brit. Med. Journ., 30-01-1897 (256)

(528) YOSHIDA

Über Immunisierung per os.

Arch. f; Hyg. 1908, 69, (21).

(529) YOSHIDA (N.), FUKUYA (I.), KAKUTANI (I.), TANAKA (S.), TAKAISHI (K.),
NISHINO (K.) and HASHIMOTO (T.)

Studies on the bacterial cell wall. IX-A study on the electron microscopical difference in the surface structure of the cell walls between the V and W phase organisms of typhoid bacilli.

Tokushima J. Exp. Med., 1955, 2, (117-122).

(530) YOUNG (A.S.) and YOUNG (G.P.)

Immunogenic activity of a ribosomal fraction obtained from Mycobacterium tuberculosis

J. Bacteriol., 1965, 89, (1291-1298).

(530 bis) YOUNG (A.S.), YOUNG (G.P.)

Effect of trypsin and ribonuclease on the immunogenic activity of ribosomes and ribonucleic acid isolated from Mycobacterium tuberculosis

J. Bacteriol., 1966, 91 (2146-2154).

(531) YOUNG (G.P.), YOUNG (A.S.)

Implications of immunization against infectious diseases with ribosomal and RNA vaccines.

"The immune system and infectious diseases" 4 Th intern. Convoc.

Immunol., Buffalo N.Y., 1974, (453-468) (Karger Basel 1975).

(532) YUGOSLAV. TYPHOID COMMISSION

Field and laboratory studies with typhoid vaccines. A preliminary report.

Bull. Wld. Hlth. Org. 1957, 16, (897).

(533) YUGOSLAV TYPHOID COMMISSION (B. CVJETANOVIC)

A controlled field trial on the effectiveness of phenol and alcohol typhoid vaccines.

Bull. Wld. Hlth. Org. 1962, 86, (357-369).

I. C. VAUBECOUR
l'Imprimerie des étudiants lyonnais
11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85

I. C. VAUBECOUR
l'Imprimerie des étudiants lyonnais
11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85